

Retroviral hybrid vectors pseudotyped with LCMV glycoprotein

Patent number: EP1006196
Publication date: 2000-06-07
Inventor: LAER MEIKE-DOROTHEE VON (DE); BEYER WINFRIED (DE)
Applicant: HEINRICH PETTE INST (DE)
Classification:
- international: **C07K14/08; C12N15/867; A61K48/00; C07K14/005; C12N15/867; A61K48/00; (IPC1-7): C12N15/867; A61K48/00; C07K14/08; C12N5/10; C12N7/01; C12N15/40**
- european: **C07K14/08; C12N15/867P; C12N15/867T**
Application number: EP19990250415 19991125
Priority number(s): DE19981056463 19981126

Also published as:

US6440730 (B1)
EP1006196 (A3)
DE19856463 (A1)
EP1006196 (B1)

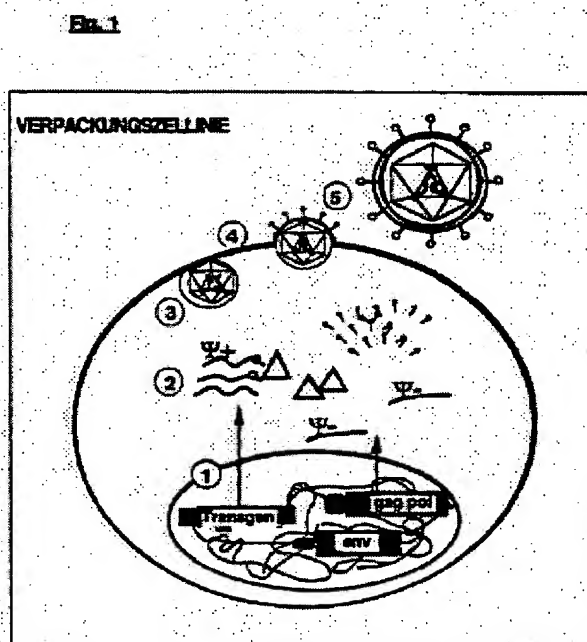
Cited documents:

XP002135672
XP002135673
XP000616414
XP000891881
XP002135674

[Report a data error here](#)

Abstract of EP1006196

A retroviral packing cell (I), comprising the retroviral genes gag, pol and glycoproteins GP-1 and GP-2 of the LCMV coding gene gp, or a part of these, is new. Independent claims are also included for the following: (1) preparation of (I); (2) a retroviral packing cell (II) expressing pseudo-type virions, which contain LCMV glycoproteins in their coat; (3) pseudo-type virions (III) produced by (II); (4) a retroviral pseudo-type vector (IV), produced by cultivating (I); (5) preparation of (IV); (6) a lymphocyte Choriomeningitis virus (V), comprising the gene gp, which encodes the 498 amino acid sequence, fully defined in the specification, or a part of it; (7) a protein (VI) having the fully defined 498 amino acid sequence, or a part of it; and (8) a nucleic acid sequence (VII) having the fully defined 1497 base pair sequence, or a part of it.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 1 006 196 A2

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
07.06.2000 Patentblatt 2000/23

(21) Anmeldenummer: 99250415.9

(22) Anmeldetag: 25.11.1999

(51) Int. Cl.⁷: C12N 15/867, C12N 5/10,
C12N 7/01, A61K 48/00,
C07K 14/08, C12N 15/40

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 26.11.1998 DE 19856463

(71) Anmelder:
Heinrich-Pette-Institut
20251 Hamburg (DE)

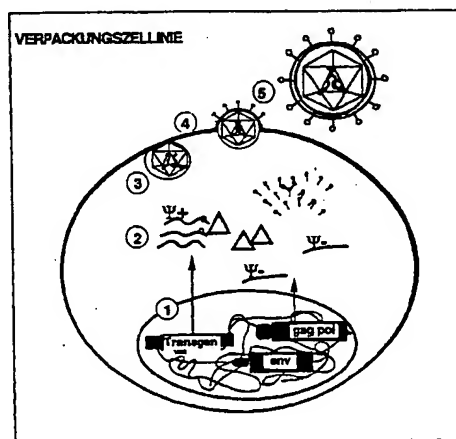
(72) Erfinder:
Laer, Meike-Dorothee von
22529 Hamburg (DE)

(74) Vertreter: UEXKÜLL & STOLBERG
Patentanwälte
Beselerstrasse 4
22607 Hamburg (DE)

(54) Retrovirale, mit LCMV-Glykoprotein pseudotypisierte Hybrid-Vektoren

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein die Pseudotypisierung von Retroviren mit lymphozytärem Choriomeningitisvirus. Insbesondere betrifft die Erfindung die Pseudotypisierung in MLV-Verpackungszellen, die gegebenenfalls *env*-deletiert sind, oder in Verpackungszellen, die von Lentiviren abgeleitet sind. Vorzugsweise erfolgt die Pseudotypisierung durch Infektion mit LCMV oder einer vorzugsweise *env*-deletierten Mutante, oder durch Transfektion mit einem das *gp*-Gen des LCMV oder einen Teil desselben und ggf. zusätzlich das *np*-, das *1*- und/oder das *z*-Gen des LCMV enthaltenden Expressionsplasmid. Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung derartiger Pseudotypen zur Infektion von Zellen, insbesondere die Verwendung in der Gentherapie.

Fig. 1



EP 1 006 196 A2

Beschreibung

- [0001] Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein die Pseudotypisierung von Retroviren mit lymphozytärem Choriomeningitisvirus (LCMV). Insbesondere betrifft die Erfindung die Pseudotypisierung in MLV-Verpackungszellen, die gegebenenfalls *env*-deletiert sind, oder in Verpackungszellen, die von Lentiviren abgeleitet sind. Vorzugsweise erfolgt die Pseudotypisierung durch Infektion mit LCMV oder einer vorzugsweise *env*-deletierten Mutante, oder durch Transfektion mit einem das *gp*-Gen des LCMV oder einen Teil desselben und gegebenenfalls zusätzlich das *np*-, das *l*- und/oder das *z*-Gen des LCMV enthaltenden Expressionsplasmid. Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung derartiger Pseudotypen zur Infektion von Zellen, insbesondere die Verwendung in der Gentherapie.
- [0002] Retrovirale Vektoren finden im Stand der Technik zunehmend Verwendung, beispielsweise für den Gentransfer in der gentechnischen bzw. medizinischen Forschung oder bei gentherapeutischen Ansätzen (vgl. z.B. C. Baum et al. in *Seminars in Oncology: Gene Therapy of Cancer: Translational approaches from preclinical studies to clinical implementations*., eds. Gerson, & Lattime, Academic Press, 1998). Die retroviralen Vektoren sind meist von murinen Leukämieviren (MLV) abgeleitet und enthalten alle für die Integration notwendigen Sequenzen der LTR-Regionen und das für die Verpackung verantwortliche ψ -Element. Die für die Virus-proteine codierenden Bereiche sind durch Fremdgene und deren Kontrollsequenzen ersetzt, die man in menschliche Zellen einbringen möchte. Die Vektoren werden in sogenannten Helferzelllinien (Verpackungszelllinien) exprimiert, die eine Kopie eines kompletten Retrovirusgenoms enthalten. Es synthetisiert alle für die Replikation und Infektion notwendigen Proteine, kann jedoch seine genomische Virus-RNA nicht in Partikel verpacken, da es einen Defekt in den ψ -Sequenzen aufweist. Werden die retroviralen Vektoren in diese Helferzellen eingebracht und transkribiert, kann die gebildete transgene mRNA durch die ihr eigene ψ -Region mit den Strukturproteinen des Helfervirus interagieren und zu Partikeln verpackt werden. Die rekombinanten Virionen, die keinerlei Erbinformation für Viruskomponenten besitzen, adsorbieren über ihre Oberflächenproteine an Zellen, die Capside werden in das Cytoplasma aufgenommen, und die transgene RNA wird in doppelsträngige DNA überschrieben und in das Wirtszellgenom integriert. Der Vorteil dieses Systems ist die stabile Integration der Fremdgene, die bei Teilungen auf die Tochterzellen weitergegeben werden. Nachteilig ist die Retroviren eigene unspezifische Integration an willkürlichen Stellen des Zellgenoms.
- [0003] Retrovirale Vektoren vermitteln eine stabile, kolineare Integration (d.h. ohne Rekombinationen und Rearrangierung der kodierenden Sequenzen im Vektorgenom) und dadurch eine langfristige Expression des Transgens. Eine langfristige Genexpression ist sonst bislang nur noch durch die episomalen Herpesvirusvektoren oder die Adeno-assoziierte virus-Vektoren (AAV-Vektoren) möglich. Für die letztgenannten Vektorsysteme sind die Verpackungssysteme (Verpackungszelllinien) jedoch noch nicht optimiert. AAV-Vektoren weisen ferner eine geringe Verpackungskapazität (ca. 5 kb für AAV gegenüber ca. 10-12 kb für retrovirale Vektoren) auf.
- [0004] Verpackungslinien exprimieren neben dem zu transferierenden Gen, dem Transgen, auch das Vektor-Genom, das retrovirale cis-Elemente enthält. Das genomische Vektortranskript kodiert also nicht für retrovirale Proteine, wird aber in den Verpackungslinien mit Hilfe der *gag*-, *Pol*- und *env*-Genprodukte in ein infektiöses, aber nicht replikationsfähiges Virion eingebaut. Dieses Virion kann dann als retroviraler Vektor zum Transfer des in das Vektorgenom integrierten Transgens in die gewünschten Zielzellen eingesetzt werden, ohne daß es dort zur weiteren Vermehrung des Vektors kommt. Mit anderen Worten, der virale Vektor kann die Zielzellen nur infizieren, sich dort aber nicht weiter vermehren.
- [0005] Die Entwicklung retroviraler Verpackungssysteme ist bereits weit fortgeschritten, und Vektorüberstände, die frei von replikationskompetenten Viren sind, können in großen Mengen unter GMP-Bedingungen (Good manufacturing practice; Richtlinie der Kommission zur Festlegung der Grundsätze und Leitlinien der guten Herstellungspraxis (GMP) für bestimmte Arzneimittel zur Anwendung beim Menschen (91/356/EWG) vom 13.6.91) hergestellt werden. Vektoren auf Basis des murinen Leukämievirus (MLV-Vektoren) wurden bereits mehrfach in klinischen Studien eingesetzt (P. Chu et al., J. Mol. Med. 76 (1998) 184-192).
- [0006] Im Stand der Technik sind zwei grundsätzliche Typen retroviraler Verpackungssysteme bekannt (J.M. Wilson, Clin. Exp. Immunol 107 Suppl. 1 (1997) 31-32; C. Baum et al. (1998), loc. cit.).
- [0007] MLV-Verpackungszelllinien enthalten die retroviralen Gene *gag*, *pol* und *env* (Abb. 1), und die für die Verpackung der retroviralen RNA erforderliche Sequenzen sind deletiert (C. Baum et al. (1998), loc. cit.).
- [0008] Der zweite Typ der bekannten Verpackungssysteme leitet sich von den Lentiviren ab (R. Carroll et al., J. Virol. 68 (1994) 6047-6051; P. Corbeau et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 (1996) 14070-14075; L. Naldini et al., Science 272 (1996) 263-267; C. Parolin et al., J. Virol. 68 (1994) 3888-3895; J. Reiser et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 (1996) 15266-15271; J.H. Richardson et al., J. Gen. Virol. 76 (1995) 691-696; T. Shimada et al., J. Clin. Invest. 88 (1991) 1043-1047). Lentiviren sind komplexe Retroviren, die zusätzlich zu den *gag*-, *pol*- und *env*-Genprodukten noch eine Reihe regulatorischer Gene exprimieren. Beispiele für Lentiviren, aus denen Verpackungssysteme abgeleitet wurden, sind das humane Immundefizienzvirus (HIV), das "Simian Immundefizienzvirus" (SIV) und das "Feline Immundefizienzvirus" (FIV). Der Aufbau der lentiviralen Verpackungssysteme ähnelt prinzipiell demjenigen der MLV-Vektoren.
- [0009] Vorteil der lentiviralen Vektoren ist, daß sie auch ruhende Zellen infizieren können. Bei MLV-Vektoren hinge-

- gen kann das Vektorgenom nur während der Zellteilung in den Zellkern transportiert werden, d.h. wenn die Kernmembran aufgelöst ist. Allerdings weisen von Lentiviren abgeleitete Verpackungssysteme aufgrund des komplexen Aufbaus des lentiviralen Genoms Nachteile auf, die sich in einem vergleichsweise geringen Titer und einer geringeren Sicherheit äußern. Durch den komplexen Genomaufbau lassen sich cis- und trans-Elemente im Genom nicht klar voneinander trennen. In den Verpackungskonstrukten, die lentivirale *gag*-, *pol*- und *env*-Gene exprimieren, befinden sich daher auch wichtige cis-regulatorische Sequenzen (z.B. Teile des Verpackungs-Signals), die auch im Vektor-Genom enthalten sein müssen. Durch diese Homologien kann es zu Rekombinationen zwischen Vektorgenom und den Verpackungskonstrukten und damit zur Freisetzung replikationskompetenter Retroviren (z.B. einem HIV-Wildvirus, was hochgradig unerwünscht wäre) kommen, so daß diese Systeme nicht mit MLV-Verpackungslinien vergleichbar sind.
- [0010] Alle bislang im Stand der Technik bekannten Vektorsysteme weisen ferner einige entscheidende Mängel auf, die einen erfolgreichen Einsatz in der Gentherapie verhindern: 1. Retrovirale Vektoren werden meist nur in unzureichenden Titern produziert und können durch die Instabilität ihrer Hüllproteine nicht weiter aufkonzentriert werden. 2. Vektorpartikel können aufgrund der Instabilität ihrer Hüllproteine nicht ohne Verlust der Infektiosität aufgereinigt werden. Eine solche Aufreinigung ist aber essentiell, da die Zellkulturüberstände, aus denen Vektoren geerntet werden, durch zelluläre Bestandteile verunreinigt sind. 3. Durch ihre Hüllproteine werden retrovirale Vektoren von humanem Serum-Komplement inaktiviert. 4. Der Rezeptor für das Hüllprotein der klassischen, amphotropen Vektoren wird auf fast allen in Betracht gezogenen Zelllinien exprimiert. Allerdings weisen viele primäre humane Zellen, wie Hepatozyten und hämatopoetische Stammzellen, die attraktive Ziele der Gentherapie sind, einen Mangel an funktionellen amphotropen Rezeptoren auf, wodurch eine Transduktion erschwert oder verhindert wird.
- [0011] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, retrovirale Verpackungssysteme zur Verfügung zu stellen, die die Nachteile der im Stand der Technik bekannten Verpackungszelllinien nicht aufweisen.
- [0012] Insbesondere ist es Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Verpackungssysteme zur Verfügung zu stellen, die einen stabilen, retroviralen Transfer von Transgenen in die Zielzellen ermöglichen, d.h., zu einer stabilen Integration des Transgens in das Genom der Ziel- oder Wirtszellen und einer anschließenden stabilen Expression dieses Gens führen.
- [0013] Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß man Retroviren mit Lymphozytärem Choriomeningitisvirus (LCMV) pseudotypisiert.
- [0014] Die vorliegende Erfindung betrifft daher ein rekombinantes Virion, das vorzugsweise mit einem oder mehreren Fremdgenen transfiziert ist, welches durch Pseudotypisierung des Viruspartikels mit Lymphozytärem Choriomeningitisvirus (LCMV) erhältlich ist.
- [0015] Der Tropismus und auch die Stabilität eines Virus wird in erster Linie vom Hüllprotein bestimmt. Murine Retroviren können, neben den MLV-*env* kodierten Glykoproteinen, auch Hüllproteine anderer Virusarten in ihre Virus-hülle einbauen. Dadurch entstehen sogenannte Pseudotypen. Retrovirale Pseudotypvektoren entstehen durch Expression fremder viraler Hüllproteine in MLV-Verpackungslinien. Herkömmliche MLV-Verpackungszelllinien enthalten die retroviralen Gene *gag*, *Pol* und *env*. Sequenzen, die für die Verpackung retroviraler genomischer RNA notwendig sind, wurden deletiert. In solche Verpackungslinien wird ein Vektor eingebracht, der neben dem Gen, das transferiert werden soll, auch die retrovirale Verpackungssequenz und weitere retrovirale cis Elemente enthält (LTR, leader). Das retrovirale RNA-Genom wird mit Hilfe der *Gag*-, *Pol*- und *Env*-Genprodukte in ein infektiöses, aber nicht replikationsfähiges Virion eingebaut. Dieses Virion kann dann als retroviraler Vektor zur Transduktion von Zellen eingesetzt werden. Pseudotyp-Verpackungslinien enthalten zusätzlich das Hüllproteingen eines fremden Virus. Die erfindungsgemäßen Pseudotyp-Verpackungslinien enthalten das Hüllproteingen des LCMV, und es erfolgt eine Expression der LCMV-Glykoproteine.
- [0016] Mit der vorliegenden Erfindung werden erstmals Vektorsysteme zur Verfügung gestellt, die in hohen Titern produziert werden und aufkonzentriert werden können. Die erfindungsgemäßen Vektorpartikel lassen sich ferner ohne oder ohne wesentlichen Verlust der Infektiosität aufreinigen. Es hat sich im Rahmen der vorliegenden Erfindung überraschenderweise gezeigt, daß die erfindungsgemäße Pseudotypisierung für die Verpackungszellen nicht zelltoxisch ist. Es werden somit erstmals stabile Verpackungszelllinien (Verpackungssysteme) zur Verfügung gestellt, die einen stabilen, retroviralen Transfer von Transgenen in die Zielzellen ermöglichen, d.h., zu einer stabilen Integration des Transgens in das Genom der Ziel- oder Wirtszellen und einer anschließenden stabilen Expression dieses Gens führen.
- [0017] Die erfindungsgemäßen Zelllinien zeichnen sich ferner durch ein breites, spezieübergreifendes Wirtszellspektrum (Zelltropismus) aus. Ein entscheidender Vorteil der vorliegenden Erfindung ist die Tatsache, daß einzelne Mutationen im Hüllprotein des LCMV zu einer Änderung des Tropismus von LCMV führen können. D.h., durch einzelne Punktmutationen in *gp* werden Viren, die eher Nervenzellen infizieren, zu Viren, die eher Lymphozyten infizieren oder zu solchen, die eher Monozyten infizieren.
- [0018] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird zur Pseudotypisierung LCMV eingesetzt. Dabei ist es möglich oder kann sogar bevorzugt sein, statt des LCMV-Wildtyps andere LCMV-Stämme einzusetzen. So können leichte Variationen in der *gp*-Nukleinsäuresequenz bzw. in der Aminosäure-Sequenz des exprimierten Hüllproteins in verschiedenen Stämmen von LCMV den Zelltropismus (Wirtszellspektrum) von LCMV erheblich verändern (M. Matloubian

et al., J. Virol. 67 (1993) 7340-7349; M.N. Teng, J. Virol. 70 (1996) 8438-8443; King et al., J. Virol. 64; 1990, 5611-5616). Solche Tropismusvarianten im Glykoprotein findet man für keinen der bisher bekannten retroviralen Vektorsysteme, und es wird erfindungsgemäß erstmals eine gezieltere Transduktion des gewünschten Zelltyps ermöglicht. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung kann es daher von Vorteil sein, Verpackungssysteme mit verschiedenen Glykoprotein-Varianten (GP-Varianten) für unterschiedliche Anwendungen anzulegen.

[0019] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird vorzugsweise von den *gp*-Genen des eher neurotrophen LCMV-Stammes Armstrong, L(ARM) (L. Villarete et al., J. Virol. 68 (1994) 7490-7496) (für SEQ ID NO: 4 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 3), und des eher hämatotropen Stammes WE (V. Romanowski et al., Virus Res. 3, (1985) 101-114) (SEQ ID NO: 1) ausgegangen. Erfindungsgemäß eingeschlossen sind auch Varianten (Tropismusvarianten) dieser beiden Stämme, bei denen im *gp*-Genprodukt einzelne Aminosäuren ausgetauscht sind, da dadurch der Tropismus des Virus verändert werden kann.

[0020] Da LCMV ein RNA-Virus ist, das im Vermehrungszyklus keine Kernphase hat, erscheint es sehr wahrscheinlich, daß sich "kryptische Spleiß-Regionen" in der RNA Sequenz befinden. Die Entfernung (Bereinigung) solcher Regionen kann ausgenutzt werden, um eine verbesserte Expression zu erzielen. Solche "spleißbereinigte" Varianten sind daher erfindungsgemäß ebenfalls eingeschlossen. Durch eine solche Optimierung der GP-Expression kann die Pseudotypisierung verbessert werden, wobei auf eine zusätzliche Unterstützung durch mindestens ein weiteres LCMV-Protein verzichtet werden kann.

[0021] Eine bevorzugte Variante ist auch die im Rahmen der vorliegenden Erfindung erstmals entwickelte Mutante WE-HPI, deren für GP kodierende Nukleinsäuresequenz *gp* (Open reading frame (ORF) in SEQ ID NO: 25 dargestellt) gegenüber dem dem LCMV-Stamm WE Mutationen an den Positionen 281, 329, 385, 397, 463, 521, 543, 631, 793, 1039, 1363 und 1370 enthält, der für die in SEQ ID NO: 26 gezeigte GP-Variante kodiert, die gegenüber SEQ ID: NO 2 Aminosäureaustausche an den Positionen 94, 110, 129, 133, 155, 174, 181, 211, 265, 347, 455 und 457 aufweist. Diese GP-Variante weist den Vorteil auf, daß sie auch ohne zusätzliche LCMV-Hilfsproteine stabil ist und gegenüber dem Stamm WE eine verbesserte Pseudotypisierung bewirkt.

[0022] Die Erfindung betrifft daher ferner eine Variante des Lymphozytären Choriomeningitis Virus, die das Gen *gp* enthält, das für die in SEQ ID NO: 26 dargestellte Sequenz oder einen Teil derselben kodiert, wobei das *gp*-Gen vorzugsweise die in SEQ ID NO: 25 dargestellte Sequenz oder einen Teil derselben aufweist. Ferner ist erfindungsgemäß ein Protein mit der in SEQ ID NO: 26 gezeigten Aminosäuresequenz oder einem Teil derselben eingeschlossen sowie eine für dieses Protein kodierende Nukleinsäuresequenz, vorzugsweise die in SEQ ID NO: 25 dargestellte Sequenz oder ein Teil derselben. Diese Virusvariante sowie die die letztgenannten Nuklein- und Aminosäuresequenzen sind, z.B. ausgehend von der LCMV-Variante WE, durch dem Fachmann allgemein bekannte Verfahren (z.B. durch Einführung von Punktmutationen) erhältlich.

[0023] Zur Expression von LCMV eignen sich allgemein Expressionsvektoren, die eine hohe stabile Genexpression in eukaryontischen Zellen ermöglichen. Die Wahl des Expressionsvektors ist für die Verpackung der retroviralen LCMV-Pseudotypen jedoch nur insoweit entscheidend, als er ein hohes und stabiles Expressionsniveau gewährleisten muß, d.h. ein Expressionsniveau, das hoch genug ist, um die Bildung von Pseudotypen zu ermöglichen, und das dauerhaft (stabil) ist, ohne daß es zum Abschalten des Promoters kommt.

[0024] Erfindungsgemäß besonders bevorzugt sind die folgenden beiden Expressionskassetten:

(CMV-Promoter)--(β -Globin-Intron-2)--(*gp*)--(SV40 poly A-Signal)
und
(EF-1 α -Promoter)--(*gp*)--(poly-A-Signal des G-CSF-Genes)
(S. Mizushima, Nucleic Acids Res. 18 (1990) 5322, T. Uetsuki, J. Biol. Chem. 264 (1989) 5791-5798).

[0025] Die Sequenzen für die Bestandteile der Expressionskassetten sind im Sequenzprotokoll dargestellt oder allgemein bekannt:

Cytomegalovirus-Promoter (CMV-Promoter):

(M. Boshart et al., Cell 41 (1958) 521-530; F. Langle-Rouault et al., Virol. 72(7) 6181-5 (1998))

betaglobin-Intron-2:

(Jeffreys, A.J. et al., Cell 12 (1977) 1097-1108)

SV40 poly A-Signal:

(M. Boshart et al., Cell 41 (1958) 521-530; F. Langle-Rouault et al., Virol. 72(7) 6181-5 (1998))

EF-1 α -Promoter: SEQ ID NO: 9

(S. Mizushima, Nucleic Acids Res. 18 (1990) 5322, T. Uetsuki, J. Biol. Chem. 264 (1989) 5791-5798).

G-CSF poly A-Signal:

(S. Mizushima, Nucleic Acids Res. 18 (1990) 5322, T. Uetsuki, J. Biol. Chem. 264 (1989) 5791-5798).

gp (LCMV): vgl. SEQ ID NO: 1, 3, für SEQ ID NO: 4 kodierender Bereich (siehe auch Anlage zum Sequenzprotokoll)

koll).

[0026] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind somit auch die o.g. Expressionskassetten eingeschlossen, wobei Änderungen in den jeweiligen Nukleinsäuresequenzen möglich sind, solange die Funktionalität der Expressionskassetten erhalten bleibt, d.h. deren erfindungsgemäße Verwendung die Pseudodypisierung der Verpackungszellen ermöglicht und auch die Transfektion der Zielzellen und die stabile Integration der Transgene in das Wirtsgenom nicht behindert.

[0027] Ferner zeigt auch ein episomaler EBV-Expressionsvektor (Epstein-Barr-Virus; vgl. F. Langle-Rouault et al., Virol. 72(7) 6181-5 (1998)) (pCep4) der Firma Invitrogen hohe Expression und kommt daher im Rahmen der vorliegenden Erfindung bevorzugt in Betracht.

[0028] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit ferner eine Verpackungszelle, die die retroviralen Gene *gag* (für SEQ ID NO: 12 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 11), *pol* (für SEQ ID NO: 13 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 11) und gegebenenfalls das retrovirale Gen *env* (für SEQ ID NO: 14 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 11) und/oder regulatorische retrovirale Gene (im Falle lentiviraler Verpackungssysteme, s.u., z.B. das für das lentivirale Rev-Protein kodierende Gen, das ein Spleißen der retroviralen genomischen RNA verhindert) umfaßt und ferner das für die Glykoproteine GP-1 und GP-2 des LCMV kodierende Gen *gp* (für SEQ ID NO: 4 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 3) oder einen Teil desselben umfaßt. Ferner eingeschlossen sind Nukleinsäuresequenzen, die Änderungen bzw. Abweichungen (Mutationen, Deletionen etc.) in den Sequenzen aufweisen (Derivate), solange bei der erfindungsgemäßen Verwendung die Pseudodypisierung der Verpackungszellen gewährleistet bleibt und auch die Transfektion der Zielzellen sowie die stabile Integration der Transgene in das Wirtsgenom nicht behindert wird. Dies schließt Fragmente der genannten Sequenzen ein. Im folgenden sollen diese Derivate stets mitumfaßt sein, wenn ein beliebiges Gen als solches erwähnt wird.

[0029] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung bezeichnet "GP" oder "GP-Protein" das GP-C-Vorläuferprotein, aus dem durch proteolytische Spaltung dann die GP-1 und GP-2 entstehen, die nachfolgend auch einfach als "LCMV-Glykoprotein" bezeichnet werden.

[0030] Erfindungsgemäß werden ferner Pseudotyp-Verpackungssysteme bereitgestellt, in denen neben dem *gp*-Genprodukt (SEQ ID NO: 4) ein oder mehrere weitere Gene von LCMV exprimiert werden, wie zum Beispiel das für das Nukleoprotein kodierende Gen *np* (für SEQ ID NO: 5 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 3), das für ein Protein mit unbekannter Funktion kodierenden Gen *z* (für SEQ ID NO: 8 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 6) und das für die RNA-Polymerase kodierende Gen *l* (für SEQ ID NO: 7 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 6). Diese Gene können gemäß einer besonderen Ausführungsform der Erfindung entweder vom WE- oder Armstrong-Stamm des LCMV stammen. In diesem Zusammenhang können entweder die vollständigen Sequenzen der Gene *np*, *z* und/oder *l* eingesetzt werden (SEQ ID NOs: s.o.) oder Teile derselben verwendet werden. Erfindungsgemäß eingeschlossen sind Nukleinsäuresequenzen, die Änderungen bzw. Abweichungen (Mutationen, Deletionen etc.) in den Sequenzen aufweisen (Derivate), solange die Pseudodypisierung der Verpackungszellen gewährleistet ist und auch die Transfektion der Zielzellen und die stabile Integration der Transgene in das Wirtsgenom nicht behindert wird. Dies schließt Fragmente der genannten Sequenzen ein. Im folgenden sollen diese Derivate stets mitumfaßt sein, wenn ein beliebiges Gen als solches erwähnt wird.

[0031] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher ferner eine Verpackungszelle, die zusätzlich zu dem *gp*-Gen des LCMV mindestens ein Gen aus der Gruppe bestehend aus dem für das Nukleoprotein kodierenden Gen *np*, dem für die RNA-Polymerase kodierenden Gen *l* und dem für ein Protein mit unbekannter Funktion kodierenden Gen *z* des LCMV enthält.

[0032] Von den erfindungsgemäßen Verpackungszellen werden die MLV/LCMV-Pseudotypen produziert, d.h. rekombinante retrovirale Virionen, die in ihrer Hülle das LCMV-Glykoprotein eingebaut enthalten.

[0033] Für die Herstellung der rekombinanten Virionen geht man im Rahmen der vorliegenden Erfindung für die viralen Verpackungszelllinien vorzugsweise von allen Zelllinien aus, die hohe Titer retroviraler Vektoren produzieren. Bevorzugt eingesetzte Zelllinien sind NIH3T3, Te671, 293T, HT1080 (F.L. Cosset et al., J. Virol. 69 (1995) 7430-7436; D. Markowitz et al., Virology 167 (1988) 400-406; W.S.Pear et al., PNAS 90 (1993) 8392-8396). Die Wahl der Zelllinie ist für die spezifischen Vorteile der Erfindung jedoch unerheblich, da es sich gezeigt hat, daß GP in keiner bislang untersuchten Zelllinie toxisch wirkt. Sollten daher zukünftig Linien gefunden werden, die eine effizientere Vektorproduktion erlauben (d.h. stabiler Titer, der mindestens so hoch ist wie in den zuvor genannten Linien, $> 10^6$ /ml), können auch diese eingesetzt werden.

[0034] In den zur erfindungsgemäßen Pseudotypisierung vorzugsweise verwendeten Verpackungssystemen werden die *gag*- und *pol*-Gene des Moloney Stammes muriner Leukämieviren (MoMLV) exprimiert (*gag*: für SEQ ID NO: 12 kodierender Bereich; *pol*: SEQ ID NO: 11, Nukleotide 1970-5573; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 11). Erfindungsgemäß sind aber auch andere *gag*- und *pol*-Varianten von MLV eingeschlossen, solange sie die

o.g. Vorteile für die Vektorproduktion aufweisen. Insbesondere sind erfindungsgemäß die o.g. Gen-Derivate eingeschlossen.

[0035] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde festgestellt, daß LCMV-GP auch lentivirale Nucleocapside pseudotypisiert (s. Beispiele). Gemäß einer besonderen Ausführungsform können die Verpackungssysteme daher auch die *gag*- und *pol*-Genprodukte von Lentiviren enthalten, d.h., es können lentivirale Verpackungssysteme (Verpackungszelllinien) eingesetzt werden. Dabei ist es unerheblich, von welchem Lentivirus sich das Verpackungssystem ableitet. Als lentivirale Verpackungszellen kommen im Rahmen der vorliegenden Erfindung beispielsweise von Humanem Immundefizienzvirus (HIV), Affen-Immundefizienzvirus (SIV) oder Feline Immundefizienzvirus (FIV) abgeleitete Zelllinien in Betracht. In diesem Zusammenhang könnte es für eine effiziente Produktion infektiöser Lentivirusvektoren erforderlich sein, zusätzlich akzessorische lentivirale Gene wie *rev* (für SEQ ID NO: 21 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 15) oder *tat* (für SEQ ID NO: 20 kodierender Bereich; vgl. Anlage zum Sequenzprotokoll, ZU SEQ ID NO: 15) bei HIV-Vektoren zu exprimieren. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung können LCMV-Proteine in allen lentiviralen Verpackungssystemen zur Pseudotypisierung eingesetzt werden.

[0036] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit ferner eine (virale) Verpackungszelle bzw. ein pseudotypisiertes Virion, bei dem das Virus aus der Familie der Retroviridae, insbesondere den MLV-related viruses und den Lentiviren, ausgewählt ist. Gemäß einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird die retrovirale Verpackungszelle aus der Gruppe ausgewählt, die aus Verpackungszellen besteht, die sich von MLV, HIV, SIV, und FIV ableiten.

[0037] Erfindungsgemäß wird ferner ein pseudotypisiertes Virion zur Verfügung gestellt, das durch Pseudotypisierung einer retroviralen Zelle von MLV, die kein ENV-Protein exprimiert, erhältlich ist, wobei zur Pseudotypisierung die defekte Mutante L(ARM) von LCMV verwendet wird. Alternativ können auch andere Varianten von LCMV eingesetzt werden.

[0038] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ferner ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verpackungszellen/Verpackungszelllinien, bei dem man eine mit einem oder mehreren Fremdgenen transfizierte retrovirale Verpackungszelllinie nach bekannten Methoden (vgl. z.B. Maniatis, Sambrook, Fritsch: Molecular cloning, a laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982) mit LCMV infiziert. Die Virionen, die LCMV-Glykoprotein in ihrer Hülle eingebaut enthalten, werden von den Verpackungslinien exprimiert. Gemäß einer besonderen Ausführungsform der Erfindung können die Pseudotyp-produzierenden Verpackungszellen hergestellt werden, indem man eine mit einem oder mehreren Fremdgenen transfizierte retrovirale Verpackungszelllinie mit einem Expressionsplasmid transfiziert, das das *gp*-Gen des LCMV oder einen Teil desselben und gegebenenfalls zusätzlich ein oder mehrere Gene aus der Gruppe bestehend aus *np*, *l* und *z* des LCMV enthält.

[0039] Die vorliegende Erfindung betrifft somit ferner ein Verfahren zur Herstellung retroviraler Pseudotyp-Vektoren, bei dem man zunächst retrovirale Verpackungszellen herstellt, die mindestens das *gp*-Gen des LCMV oder einen Teil desselben enthalten (s.o.), und diese anschließend unter Bedingungen kultiviert, die zur Produktion von Virionen geeignet sind.

[0040] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendet man als retrovirale Verpackungszelllinie vorzugsweise eine MLV-Verpackungszelllinie, die kein funktionelles ENV-Protein exprimiert, und als LCMV zur Pseudotypisierung die deletierte Mutante L(ARM). Als ENV-negative Verpackungszelllinie kann auch die von von Laer et al. (J. Virol. 72 (1998) 1424-1430) beschriebene Zelllinie verwendet werden.

[0041] Die erfindungsgemäßen Virionen bzw. Verpackungszelllinien lassen sich in vorteilhafter Weise zur Erzeugung viraler Pseudotypvektoren verwenden, die man in vorteilhafter Weise zur Transduktion von Zelllinien aber auch von primären Eukaryonten-Zellen zu Forschungszwecken (*in vitro*) oder im Rahmen der Gentherapie einsetzen kann.

[0042] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kommt jedoch auch die Verwendung der Virionen/Verpackungszellen zur Gentherapie in Betracht. Die Gentherapie kann in diesem Zusammenhang die Therapie von infektiösen Erkrankungen (wie HIV-Infektionen oder AIDS) und Neoplasien (wie dem Mamma-Karzinom) oder Melanomen sowie anderen durch Gentherapie zugänglichen Erkrankungen umfassen. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kommt die Transduktion hämatopoetischer Stammzellen in Betracht.

[0043] Das rekombinante Virion bzw. die rekombinante Verpackungszelle (-zelllinie) der vorliegenden Erfindung umfaßt ein oder mehrere Transgene. Vorzugsweise sind diese Transgene aus der Gruppe bestehend aus Markergenen, wie z.B. *neo*, *lacZ* oder enhanced green fluorescent protein (EGFP)-Gen und/oder therapeutisch einsetzbaren Genen, wie z.B. die Suizidgene Herpes Simplex Virus Thymidin Kinase (HSV-tk), Gytosin Deaminase (CD), und antiviral wirksame Sequenzen wie Ribozyme, antisense Sequenzen und transdominant-negativ wirkende Gene und in der Tumorthherapie entsetzbaren Genen, wie *mdr-1* für den Schutz der hämatopoetischen Zellen bei Chemotherapie, und Zytokin-Genen, ausgewählt. Darüber hinaus können jedoch alle Transgene eingesetzt werden, die im Rahmen eines gezielten Gentransfers und der Expression des Transgens (der Transgene) in Zellen *in vitro* oder im Rahmen der Gentherapie von Interesse sein könnten.

[0044] Erfindungsgemäß eingeschlossen ist ferner ein Verfahren zur Herstellung eines pharmazeutischen Präparats zur Gentherapie, bei dem man erfindungsgemäße virale Pseudotypvektoren bzw. retrovirale Verpackungszellen gegebenenfalls mit pharmazeutisch verträglichen Hilfs- und/oder Trägerstoffen formuliert. Gegenstand der vorliegen-

den Erfindung ist ferner ein pharmazeutisches Präparat zur Gentherapie, das erfindungsgemäße retrovirale Verpackungszellen und gegebenenfalls pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe umfaßt.

[0045] Für eine Gentherapie *in vivo* ist oft wesentlich, daß nur bestimmte Zielzellen genetisch verändert werden und andere nicht. So soll z.B. ein Suizidgen nur in Tumorzellen und nicht in gesunde Zellen gelangen, ein Chemotherapieresistenzgen nur in gesunde Blutstammzellen und nicht in kontaminierende Tumorzellen. Für den gezielten Gentransfer in spezifische Zellen wurde bereits versucht, Liganden in die Hülle von retroviralen Vektoren oder in Liposomen einzubauen. Ein gezielter Gentransfer gelang damit aber bislang nicht, da die Liganden nur die Bindung an die Zielzelle aber keinen Eintritt des Vektorgenoms in das Zytoplasma vermitteln (F.L. Cosset et al., J. Virol. 69 (1995) 6314-6322), d.h. keine Fusion mit der Lysosomenmembran erfolgt. Dieses Problem läßt sich durch den Einsatz viraler Hüllproteine lösen, die Fusionsaktivität aufweisen, d.h., die als Fusionsprotein die Lysosomen-Membran überwinden. Die Verwendung von LCMV GP ist in diesem Zusammenhang von großem Vorteil, da bei diesem viralen Hüllprotein bei niedrigem pH-Wert, wie er im Endosom der Zielzelle vorherrscht, eine Konformationsänderung erfolgt, die - ohne daß eine Rezeptorbindung des LCMV GP erforderlich ist - zur Aktivierung der Fusionsfunktion führt. Da LCMV GP - im Gegensatz zu anderen Fusionsproteinen - keine Fusion von Zellmembranen vermittelt, ist es nicht zytotoxisch und führt nicht zur Riesenzellenbildung (vgl. C. di Simone et al., Virology 198 (1994) 455-465).

[0046] Erfindungsgemäß eingeschlossen sind daher auch retrovirale Verpackungszellen, die die retroviralen Gene *gag*, *pol* und *env* und/oder regulatorische retrovirale Gene und ferner das für die Glykoproteine GP-1 und GP-2 des LCMV kodierende Gen *gp* oder einen Teil desselben enthält, wobei *env* so modifiziert ist, daß es für ein Env-Protein kodiert, das eine spezifische Bindung an die Zielzelle vermittelt (sogen. targeting-*env*) und wobei *gp* eine Variante ist, die für ein GP-Protein kodiert, das Fusionsaktivität aufweist (sogen. fusion helper). Ferner sind Verfahren zur Herstellung dieser Verpackungszellen eingeschlossen, bei denen man als retrovirale Verpackungszelle eine Verpackungszelle einsetzt, die das retrovirale Gen *env* enthält, das so modifiziert ist, daß es für ein Env-Protein kodiert, das eine spezifische Bindung an die Zielzelle vermittelt und wobei *gp* eine Variante ist, die für ein GP-Protein kodiert, das Fusionsaktivität aufweist. In diesem Zusammenhang kann es im Einzelfall erforderlich sein, den für die Rezeptorbindungsstelle des LCMV GP kodierenden Sequenzabschnitt zu mutieren (ohne die Fusionsaktivität zu beeinträchtigen), um eine Bindung von GP an dessen zellulären Rezeptor zu vermeiden oder zurückzudrängen. Alternativ kommt die Verwendung neutralisierender Antikörper gegen GP in Betracht, die in der Lage sind, die Rezeptor-Bindung zu neutralisieren, ohne die pH-Wert-abhängige Fusion durch GP zu hemmen. Durch die im Rahmen der vorliegenden Erfindung erstmals zur Verfügung gestellten stabilen Verpackungszelllinien ist es nunmehr möglich die Rezeptorbindungsstelle durch gezielte Mutagenese des GP-1 zu identifizieren. Diese Methode ist dem Fachmann ebenso wohlbekannt wie die Isolierung der erwähnten neutralisierenden Antikörper.

[0047] Mit der vorliegenden Erfindung werden erstmals Vektorsysteme zur Verfügung gestellt, die in hohen Titern produziert werden und aufkonzentriert werden können. Die erfindungsgemäßen Vektorpartikel lassen sich ferner ohne oder ohne wesentlichen Verlust der Infektiosität aufreinigen. Die erfindungsgemäßen Zelllinien zeichnen sich ferner durch ein breites, spezieübergreifendes Wirtszellspektrum (Zelltropismus) aus. Es hat sich im Rahmen der vorliegenden Erfindung überraschenderweise gezeigt, daß die erfindungsgemäße Pseudotypisierung für die Verpackungszellen nicht zelltoxisch ist. Es werden somit erstmals stabile Verpackungszelllinien (Verpackungssysteme) zur Verfügung gestellt, die einen stabilen, retroviralen Transfer von Transgenen in die Zielzellen ermöglichen, d.h., zu einer stabilen Integration des Transgens in das Genom der Ziel- oder Wirtszellen und einer anschließenden stabilen Expression dieses Gens führen.

[0048] Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend anhand von Beispielen, Figuren und einem Sequenzprotokoll erläutert.

BEISPIELE

Materialien und Methoden

Zellen und Viren

[0049] Die env-negative Verpackungszelllinie TELCeB wurde von F.-L. Cosset (F.L. Cosset et al. J. Virol. 69 (1995) 7430-7436) zur Verfügung gestellt. Die env-negative Zelllinie 293gp2 wurde bereits früher beschrieben (D. von Laer et al., J. Virol. 72 (1997) 1424-1430). Die Mausfibroblastenzelllinie Sc-1 wurde in Minimal Essential Medium (Sigma, Deisenhofen, Deutschland), das mit 10% fetalem Kälberserum (FCS, PAN Systems, Aidenbach, Deutschland) angereichert worden war, kultiviert. Die humane Nierenzelllinie 293, die humane Hepatomalinie HUH-7, die humane Fibroblastenzelllinie Te671 und TELCeB und die Mausfibroblastenzelllinie L-929 wurden in Dulbecco's Minimal Essential Medium (DMEM, Gibco, Paisley, Great Britain) kultiviert, das mit 10%-igem FCS angereichert worden war. Die humane hämatopoetische Vorläuferzelllinie TF-1 wurde in Iscove's Modified Dulbecco's Medium (Gibco, Paisley, Großbritannien) gehalten, das mit 10%-igem FCS und IL-3 angereichert worden war. Konditioniertes Medium von NIH3T3-

Zellen, die mit einem BPV-Vektor transfektiert worden waren, der das IL-3 Gen trägt, wurden als Quelle für IL-3 bei Konzentrationen verwendet, die für das maximale Wachstum von TF-1 notwendig sind (H. Karasuyama et al., Eur. J. Immunol. 18 (1988) 97-104). Die humane Vorläuferzelllinie K562 wurde in RPMI (Gibco) gehalten, das mit 10%-igem FCS angereichert worden war.

5 [0050] LCMV wurde am 10.11.1998 bei der European Collection of Cell Cultures (ECACC), Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Großbritannien, unter der Zugriffsnummer V98111005 nach dem Budapester Vertrag hinterlegt.

[0051] Der MESV-artige retrovirale Vektor, der das Neomycin phosphotransferase Gen (MP1N) trägt, wurde früher beschrieben (H.-G. Eckert, Blood 88 (1996) 3407-3415). Der amphotrophe Helfer war ein rekombinantes replikationskompetentes Moloney-MLV, bei dem Teile des *pol*- und der größte Teil des *env*-Genes mit dem von dem MLV Stamm 10 4070A [Mo-Ampho-MP, R320 (C. Münk, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94 (1997) 5837-5842)] als ein Sall- bis ClaI-Fragment ersetzt wurden. Der Virus wurde in Sc-1 propagiert. Der Plaquegereinigte WE Stamm des LCM Virus wurde in L-929 Zellen propagiert (T.M. Rivers, Virology 26 (1965) 270-282).

Durchflußzytometrische Analyse der LCMV-GP-Expression

15 [0052] Zur Analyse der Expression des LCMV Glykoproteins wurden 3×10^5 bis 10^6 Zellen geerntet, pelletiert und in 50 µl einer 1:40 Verdünnung von Maus-Ascites resuspendiert, die einen murinen monoklonal Antikörper gegen LCMV GP-1 enthielt (M. Bruns et al., Virology 130 (1983) 247-251). Nach 20-minütiger Inkubation auf Eis wurden die Zellen dreimal mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewaschen und dann für weitere 20 Minuten in einer 1:80 Ver-
20 dünnung eines FITC-markierten Ziege Anti-Maus Antikörpers inkubiert (Dako, Glostrup, Dänemark). Nach drei abschließenden Waschschritten in PBS wurden die Zellen mittels eines FACScalibur Geräts analysiert (Becton Dickinson, Heidelberg).

Titration der Viren

25 [0053] Zur Bestimmung des Vektortiters wurden 5×10^4 Sc-1 Zellen mit einer fünffachen Verdünnung der Überstände in 24-Vertiefungen Gewebekulturplatten inokuliert. Für den retroviralen Neovektor wurde die Selektion nach 24 Stunden mit 400 µg G418 pro ml (Trockengewicht GIBCO) initiiert. Das Medium wurde alle vier Tage ersetzt. Die Kolonien wurden nach zehn Tagen ausgewertet. Der Titer wurde ausgedrückt als G418 Resistenztransfereinheiten pro ml (GTU/ml). Für den retroviralen MFGnLacZ Vektor wurde X-Gal (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galaktopyranosid) 30 Färbung zwei Tage nach der Inokulation wie früher beschrieben (G.R. McGregor, Methods Mol. Biol. 7 (1989) 1-19) durchgeführt. Der Titer wurde ausgedrückt in LacZ Transfereinheiten (LTU) pro ml. Plaque-bildende Einheiten von LCMV wurden an L-929 Zellen wie früher beschrieben getestet (F. Lehmann-Grube, J. Gen. Virol. 37 (1977) 85-92).

[0054] MLV (LCMV) Pseudotypen wurden durch Preinkubation eines gleichen Volumens eines Virus-positiven Überstandes mit einem Anti-LCMV gp44 neutralisierendem monoklonalen Antikörper neutralisiert, der 1: 100 verdünnt wurde (M. Bruns et al., Virology 130 (1983) 247-251). Die Titer wurden dann in LTU pro ml wie beschrieben bestimmt. 35

DNA Analyse

40 [0055] Herstellung von DNA und Southern Analyse wurden durchgeführt wie früher beschrieben (C. Stocking et al., Cell 53 (1988) 869-879). Die genomische DNA wurde mit HindIII verdaut, das einmal an dem 3' Ende des *neo*-Gens in dem MP1N-Vektor schneidet. Ein Fragment, das das vollständige *neo*-Gen enthielt, wurde als Sonde verwendet.

Herstellung und Reinigung des Virus

45 [0056] Die Virionen wurden durch Gradienten Ultrazentrifugation wie im Detail früher beschrieben gereinigt (L. Martinez-Peralta et al., J. Gen. Virol. 55 (1981) 475-479). Kurz gesagt wurden infektiöse Zellkulturüberstände durch Zentrifugation bei niedrigen und hohen Geschwindigkeiten gereinigt. Das Virus wurde durch Ultrazentrifugation pelletiert und dann in einem 0-40 %-igen Urografen Gradienten (Schering AG, Berlin, Deutschland) gereinigt.

Beispiel 1

Infektion von Tel.Ceb mit LCMV-LacZ-Gentransfer auf Zielzellen mit Neutralisation des Vektors durch anti-GP mAb und Konzentrierung des Vektors im Gradienten

55 [0057] Wiederherstellung (rescue) eines Hüllprotein-negativen Murine Leukemia Virus Vector mit Lymphocytic Choriomeningitis Virus: Um zu testen, ob LCMV einen Hüllprotein-negativen retroviralen Vektor wiederherstellen (mobilisieren, komplettieren) kann, wurde die *env*-negative Verpackungszelllinie TELCeB mit dem LCMV WE Stamm

- bei einer m.o.i. von 0.01 infiziert (m.o.i.: Infektionsmultiplizität; bezeichnet die Anzahl von Viren-Partikeln, mit denen eine Zelle infiziert wird). TELCeB stammen von der Humanfibroblastenzelllinie Te671 ab und enthalten *gag*- und *pol*-Gene sowie den retrovialen Vektor MFGnslacZ (G.M. Crooks et al., Blood 82 (1993) 3290-3297). Nach Infektion mit LCMV wurde der Titer von LacZ transferring units (LTU) und von LCMV Wildtypvirus durch X-Gal-Färben der Mausfibroblasten-Zielzellen (Sc-1) und durch einen Plaqueversuch (in plaquebildenden Einheiten, PFU) gemessen. Zusätzlich wurde die Expression von LCMV-Glykoproteinen in den infizierten TELCeB durch durchflußzytometrische Analyse gemessen. Die Resultate sind in Fig. 6 gezeigt. LTU wurden sechs Tage lang hergestellt, mit einem Maximum von 5×10^4 LTU pro ml an Tag 3. Der höchste Titer für LCMV Wildtypvirus betrug 3×10^8 an Tag 2. Die Produktion von PFU hatte bereits an Tag 3 abgenommen, als die maximale Produktion von LTU zusammen mit der Höchstexpression von LCMV Glykoprotein zu sehen war. Diese Diskrepanz könnte in der Herstellung von defekten interferierenden LCMV Partikeln begründet sein, die die Replikation von LCMV Wildtyp inhibieren, mit größter Wahrscheinlichkeit aber nicht die Ausschüttung von infektiösen retroviralen Vektorpartikeln. Während der Replikation von LCMV in den Verpackungszelllinien war kein offensichtlicher zytopathischer Effekt zu beobachten, obwohl hohe Spiegel an LCMV Glykoproteinen exprimiert wurden (Daten nicht gezeigt).
- [0058] Es wurde dann getestet, ob das infektiöse Virus, das durch die LCMV-infizierten TELCeB hergestellt wurde, den LacZ-Gentransfer spezifisch durch LCMV Glykoproteine vermittelte. Die Überstände wurden mit einem neutralisierenden Anti-LCMV gp44 monoklonalem Antikörper eine Stunde lang inkubiert. Dies führte zu einer mehr als dreifachen Log Reduzierung des LTU-Titers. Der amphotrophe Pseudotyp desselben retroviralen Vektors wurde nicht durch den anti-LCMV Antikörper neutralisiert (Tab. 1). Diese Daten zeigen, daß die MLV/LCMV chimären Virionen tatsächlich LCMV Glykoproteine auf ihrer Oberfläche trugen, die den Gentransfer in Abwesenheit von retroviralen Hüllproteinen durch den LCMV Rezeptor vermitteln können.

Tab. 1

| Infektiöse retrovirale Vektor-Partikel, die von LCMV-infizierten Verpackungszelllinien produziert werden, lassen sich durch anti-LCMV-Glykoprotein monoklonale Antikörper (mAb) neutralisieren. | | |
|---|---------------|----------------|
| Virus | anti-LCMV mAb | Titer (LTU/ml) |
| Amphotroper Helfer | nein | $2 \cdot 10^5$ |
| Amphotroper Helfer | ja | $2 \cdot 10^5$ |
| LCMV | nein | $7 \cdot 10^4$ |
| LCMV | ja | $3 \cdot 10^1$ |

- [0059] MLV (LCMV) Pseudotypen behalten Infektiosität bei Konzentrierung mittels Ultrazentrifugation durch einen Gradienten: Amphotrophe Retroviren verlieren Infektivität nach Ultrazentrifugation, höchstwahrscheinlich aufgrund der Labilität der retroviralen Hüllglykoproteine (V. Moenning et al., Virology 61 (1974) 100-111). Es wurde untersucht, ob die MLV(LCMV)-Pseudotypen stabiler sind. TELCeB wurden mit LCMV oder mit amphotrophen Helfervirus infiziert. Titer des viralen Vektors im direkten Überstand betrugen 5×10^4 LTU pro ml für beide Pseudotypen. Viren wurden aus 60 ml Überstand pelletiert und durch Ultrazentrifugation über einen 0-40%-igen Urogratin-Gradienten gereinigt. Die Pseudotypentiter (in LTU pro ml) sind in Fig. 7 gezeigt. Der gesamte erwartete Ertrag von 3×10^6 LTU für den LCMV Pseudotyp wurde vollständig erhalten, im Gegensatz zu 1×10^3 LTU für den amphotrophen Virus. Die reverse Transkriptase-Aktivität in den Banden zeigte, daß die Menge an Viruspartikeln, die aus dem Gradienten gewonnen wurde, für beide Pseudotypen ähnlich war (Daten nicht gezeigt). Verglichen mit den amphotrophen Virionen war die Infektivität von MLV(LCMV)-Pseudotypen bei Ultrazentrifugation allerdings mindestens um einen Faktor 1000 stabiler.
- [0060] LCMV Pseudotypen waren auch bei Lagerung bei 4°C stabil. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von drei Tagen war der Titerverlust zweifach niedriger als (im Vergleich zum Ausgangstitel des MLV(LCMV)). Ein Tiefrierzyklus (-80°C) und Auftauen führte zu einem Verlust an Pseudotypentiter, der zweifach niedriger lag.

Beispiel 2

- Gag- und pol-Genprodukte sind erforderlich für die Verpackung von retroviralen RNA in die LCMV Glykoprotein Pseudotypen

[0061] Es wurde untersucht, ob die retrovirale RNA alleine in den LCMV verpackt werden könnte oder ob gag und pol Genprodukte erforderlich waren. 293-Zellen und 293gp2-Zellen, die letzteren enthielten gag und pol von MLV, wur-

den mit einem auf MLV-basierenden retroviralen Vektor transfiziert, der das *neo*-Gen (MP1N) enthielt, und Zelllinien, die den stabil integrierten Vektor enthielten, wurden durch G418-Selektion hergestellt (293MP1N und 293gp2MP1N; ein als SF23 bezeichneter Klon der Zelllinie 293gp2MP1N wurde am 05.11.1998 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland, unter der Zugriffsnummer DSM ACC2374 nach dem Budapester Vertrag hinterlegt). Diese Zellen (Massenkulturen) wurden dann entweder mit einem replikationskompetenten amphotropen Helfer oder mit dem LCMV-Wildtypvirus infiziert. Die Resultate sind in Tab. 2 gezeigt. Infektiöser Vektor, der Neomycin-Resistenz transferierte, wurde von beiden Zelllinien nach Infektion mit dem amphotropen Helfer gewonnen. Nach Infektion mit LCMV allerdings produzierte nur 293gpMP1N infektiöse retrovirale Partikel, 293MP1N, die kein retrovirales Gag oder Pol exprimierte, hingegen nicht. Retrovirale genomische RNA wurde daher in Abwesenheit von *gag*- und *pol*-Genprodukten durch LCMV nicht in infektiöse Viren verpackt.

Tab. 2

| Gag- und/oder pol-Genprodukte sind für die Wiederherstellung (rescue) eines retroviralen Vektors durch LCMV essentiell | | | |
|--|---|-------------------|-------------|
| Zelllinie | freigesetzter Vektortiter* nach Infektion mit | | |
| | LCMV | amphotrop. Helfer | (Kontrolle) |
| 293MP1N | 0 | $1 \cdot 10^4$ | 0 |
| 293gp2MP1N | $2 \cdot 10^3$ | $6 \cdot 10^4$ | 0 |

*Vektortiter werden in G418-resistenten Zellkolonien exprimiert, die man nach Inkulation von Sc-1 mit den viralen Überständen erhielt (G418 Transfereinheiten/ml)

Beispiel 3

30 Infektion von 293gpMP1N mit LCMV und stabiler Gentransfer auf L929 - Nachweis durch Southern-Blot

[0062] MLV (LCMV) Pseudotypen vermitteln Transfer und stabile Integration des retroviralen Vektor Genoms: Der Transfer von G418-Resistenz durch den retroviralen LCMV-Pseudotyp zeigte, daß das Markergen in das Wirtsgenom stabil integriert worden war. Um zu verifizieren, daß MLV(LCMV)-Pseudotypen stabile Transduktion mit Integration des Transgens in das Zielzellengenom vermitteln können, wurde ein retroviraler Vektor, der das Neomycin-Resistenzgen (*neo*) enthielt, durch LCMV-Infektion der *env*-negativen Verpackungszelllinie 293gp2MP1N wiederhergestellt. Die Titer wurden durch Transfer von G418-Resistenz auf Sc-1 Zellen gemessen und lagen zwischen 1×10^3 und 1×10^4 G418-Transfereinheiten (GTU) pro ml. Resistente Zellklone tauchten nach acht Tagen Selektion auf und wurden für weitere drei Wochen kultiviert. Die DNA von 12 G418-resistenten Klonen wurde einer Southern Blot Analyse nach Restriktion mit HindIII unterworfen, einem Enzym, daß nur einmal schneidet, unter Verwendung einer Neo-Sonde. In 10 Klonen wurde eine Kopie des integrierten retroviralen Vektor-Genoms pro Zelle detektiert, und zwei Kopien in den übrigen zwei Klonen (Daten nicht gezeigt). Transduktion mit dem MLV(LCMV) Pseudotyp führte daher zu stabiler Integration des Transgens.

45 Beispiel 4

Expression von LCMV-Glykoprotein (LCMV-GP) in TelCeB-L(Arm)

Material und Methoden

[0063] Die Anlage der *env*-negativen Verpackungslinie TelCeb, die *gag* und *pol* von MLV sowie ein retrovirales Vektorgenom mit LacZ als Transgen enthält, wurde bereits ausführlich beschrieben (F.L. Cosset et al., J. Virol. 69 (1995) 7430-7436). Die Titration der Vektorüberstände wurde wie bereits beschrieben auf 293-Zellen durch X-Gal Färbung vorgenommen (G.R. McGregor, Methods Mol. Biol. 7 (1989) 1-19). Die Zellen wurden in DMEM mit 10 % FOS kultiviert. Der L(Arm)-Stamm von LCMV entsteht nach mehreren Passagen von LCMV in L929-Zellen (M. Bruns et al., Virology 177 (1990) 615-624). LCMV-Nukleoprotein (LCMV-NP) von L(Arm) wurde durch Immunfluoreszenzfärbung der Zellen auf Objektträgern mit einem polyklonalen anti-LCMV Kaninchenserum nachgewiesen. Diese Standardmethode wurde bereits zuvor detailliert beschrieben (M. Bruns et al., Virology 177 (1990) 615-624). Zur Expression von

LCMV-GP, wurde das *gp*-Gen in den episomalen EBV-Vektor pCep4 (Invitrogen), der ein Hygromycin-Resistenzgen trägt, kloniert.

Ergebnisse

- 5 Bei den Experimenten zur Pseudotypisierung durch die alleinige Expression von LCMV-GP in env-negativen retroviralen Verpackungslinien wurde mit den Expressionsplasmiden eine höhere GP-mRNA-Expression erzielt als bei LCMV-Wildvirus-Infektion (Fig. 4). Dieses Ergebnis zeigt, daß das gleichzeitige Vorliegen noch mindestens eines weiteren LCMV-Genprodukts neben dem LCMV-Glykoprotein eine Steigerung der Glykoprotein-Produktion bewirkt bzw. die Bildung von Pseudotypen fördert. Um diese Schlußfolgerung direkt zu untermauern, wurde das ekto (von einem Plasmid) exprimierte LCMV-GP mit den LCMV Proteinen des L(ARM) Stammes von LCMV komplementiert. Diesem defekten Stamm fehlt das funktionelle Glykoprotein, und er bildet daher keine Plaques, ist nicht pathogen für Mäuse und breitet sich nur über mehrere Wochen innerhalb einer Zellkultur aus (LCMV-Wildvirus dagegen innerhalb von 24 Stunden). Alle weiteren Genprodukte von L(ARM) (NP, L und Z) weisen keine nachweisbaren Defekte auf.
- 10 [0064] TeLCeb wurden mit L(Arm)-haltigem Zellkulturüberstand infiziert und anschließend 5 Wochen passagiert. Dieses ist erfahrungsgemäß der Zeitraum, den das defekte Virus benötigt, um alle Zellen einer Kultur zu infizieren. Die vollständige Infektion aller Zellen wurde durch Immunfluoreszenz-Färbung mit einem anti-LCMV Serum nachgewiesen. TeLCeb-L(Arm) wurden mit pCep-GP durch Elektroporation (Elektroporator der Firma Dr. Fischer, Heidelberg) transfiziert und 2 Wochen mit Hygromycin selektiert. Als Kontrolle wurden Zellen mit pCep4 (ohne GP-Gen) transfiziert. In TeLCeb-L(Arm), die mit pCep-GP transfiziert waren, kam es nach der Selektion zur Produktion von Pseudotypen, die lacZ auf 293-Zellen übertrugen. Der Titer lag zwischen 10^2 und 10^3 /ml. Dieses Ergebnis zeigt eindeutig, daß das LCMV-GP im beschriebenen Expressionsplasmid funktionell war und retrovirale Vektoren pseudotypisieren kann.

Beispiel 5

- 25 Pseudotypisierung eines HIV-Vektors, der das green fluorescent protein (GFP) exprimiert

Material und Methoden

- 30 [0066] Der Lentivirale Vektor HIV-GFP leitet sich von dem infektiösen DNA-Klon pNL4-3 von HIV ab und ist bereits detailliert beschrieben (Abb. 5) (R. I. Connor et al., Virology 206 (1995) 935-944). Am Anfang von *env* wurde die NdeI-Schnittstelle aufgefüllt und religiert, wodurch sich das Leseraster verschiebt und kein funktionelles Hüllprotein synthetisiert wird. An Stelle von *nev* wurde außerdem das Gen für das green fluorescent protein (GFP) kloniert. Der Titer des verwendeten LCMV-WE-Stammes wurde durch einen Plaque Assay auf L929 bestimmt, der bereits detailliert beschrieben ist (F. Lehmann-Grube et al., J. Gen. Virol. 37 (1977) 85-92). Die Calciumphosphat-Transfektionen wurden auf 293 mit einem Standard-Protokoll durchgeführt (Maniatis, et al.: Molecular cloning, a laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982).

Ergebnisse

- 40 [0067] 293 Zellen wurden mit einer m.o.i. von 0.1 des LCMV-WE-Stammes infiziert. Nach einer Stunde erfolgte die Transfektion mit HIV-GFP und nach zwei Tagen wurden die Überstände geerntet und auf 293 Zellen übertragen. Der Titer wurde durch die GFP-Expression in den 293-Zielzellen mittels Immunfluoreszenz ermittelt und lag zwischen 10^2 und 10^3 pro ml. Nach Transfektion mit HIV-GFP allein (ohne vorherige Infektion mit LCMV) kam es wie erwartet nicht zur Produktion von infektiösen Vektorpartikeln.

Beispiel 6

Untersuchung des Zelltropismus

- 50 [0068] MLV(LCMV) Pseudotypen infizieren verschiedene humane Zelllinien: Der Tropismus von MLV(LCMV) Pseudotypen wurde analysiert. Verschiedene humane Zelllinien, die von Zellen abstammten, die attraktive Ziele für Gentherapie sind, wie hämatopoetische Vorläuferzellen und Hepatozyten, wurden analysiert. Die Transfereffizienz bezogen auf Mausfibroblasten ist in Tab. 3 gezeigt. Alle analysierten Zelllinien waren für MLV(LCMV)-Pseudotypen empfänglich.
- 55 Auch Hamsterzellen, die normalerweise resistent gegenüber einer Transduktion mit von MLV abstammenden Vektoren sind, konnten mit den MLV(LCMV)-Pseudotypen effizient transduziert werden.

Tab. 3

| Wirtsspektrum von MLV(LCMV)-Pseudotypen | | |
|---|-----------------------------------|------------------------|
| Zelllinie | Herkunft | Transduktionseffizienz |
| 293 | Epithel, Mensch | +++ |
| K-562 | myeloide Progenitorzellen, Mensch | +++ |
| TF-1 | myeloide Progenitorzellen, Mensch | + |
| HUH-1 | Hepatom, Mensch | ++ |
| Jurkat | Lymphozyt, Mensch | ++* |
| Sc-1 | Fibroblast, Maus | +++ |
| CHO | Epithel, Hamster | +++ |
| Cf2Th | Thymus stroma, Hund | +++ |

*Die Pseudotypen wurden mit auf Lymphozyten passagiertem (adaptiertem) LCMV hergestellt. Pseudotypen aus Fibroblasten-passagiertem LCMV transduzieren Lymphozyten nicht.

FIGUREN:

[0069]

Fig. 1: Retrovirale Verpackungslinien

Die retroviralen Gene gag, pol und env sind stabil in das Genom der retroviralen Verpackungslinien integriert. Env wird in der Regel getrennt von gag und pol exprimiert. Außerdem wird das Vektorgenom mit dem Transgen und regulatorischen cis-Elementen exprimiert (1). Die genomische RNA des Vektor enthält ein Verpackungssignal, das auf den gag, pol und env Genen deletiert wurde. Im Zytoplasma verpacken die retroviralen Proteine daher selektiv das Vektorgenom. (2). Ein komplettes retrovirales Nukleokapsid bildet sich (3), und wird durch Sprossung an der Zellmembran freigesetzt (4). Hierbei wird retrovirales Hüllprotein, bzw. bei den Pseudotypen ein fremdes virales Hüllprotein, mitgenommen. Außerhalb der Zelle reift das Virus durch proteolytische Spaltung der retroviralen Vorläuferproteine im Nukleokapsid.

Fig. 2: Die genomische RNA des LCM-Virus Das Genom von LCMV besteht aus 2 ambisense RNA Molekülen mit je zwei offenen Leserahmen. Die 4 Gene und ihre Orientierung sind angegeben.**Fig. 3: Die Herstellung von MLV(LCMV) Pseudotypen.** Verpackungslinien, die keine viralen Hüllproteine produzieren, setzen auch keine infektiösen retroviralen Vektoren frei. Wird eine solche env-negative Verpackungslinie mit LCMV-Virus infiziert, so können die Retroviren das LCMV-Glykoprotein in ihre Hülle einbauen. Es entstehen sogenannte Pseudotypen. Außerdem wird während der LCMV-Replikation auch LCM-Wildvirus freigesetzt.**Fig. 4: Diskrepanz von hoher mRNA und niedriger Proteinkonzentration bei ektopter GP-C-Expression.** 293-Zellen wurden mit unterschiedlichen Expressionskonstrukten für LCMV Glykoprotein transfiziert (Ef-1 alpha Promoter, Alphavirus-Vektor von Invitrogen, CMV-Promoter+Beta-Globin-Intron, s.o.: bevorzugte Expressionskassetten). Nach 2 Tagen wurden parallel die gp-mRNA Konzentration im Northern Blot und die GP-1/GP-2 Protein-Mengen auf den Zellen mittels Durchflußzytometrie gemessen. Als Kontrolle dienten 293-Zellen, die mit LCMV Wild-Typ infiziert waren. Bei der Wildvirusinfektion lag die GP-1/GP-2 Protein-Expression 2-3 Logstufen über der Negativkontrolle, bei einer relativ schwachen mRNA-Bande im Northern Blot (obere Bande LCMV-genomische RNA, untere Bande gp-mRNA). Bei ektopter Expression lag trotz höherer mRNA-Konzentrationen als bei der Wildvirus-Infektion die Proteinkonzentration für GP-1/GP-2 nur maximal eine Log-Stufe über der Negativkontrolle.**Fig. 5: HIV-GFP**

Der infektiöse DNA-Klon von HIV pNL4-3 wurde am Anfang des env Genes mit NdeI geschnitten, die Schnittstelle aufgefüllt und religiert (s). Hierdurch verschiebt sich der Leserahmen und es entsteht kein funktionelles env Genprodukt. Zwischen XhoI und BamHI wurde anstelle von nef das Gen für das "green fluorescent protein" kloniert (GFP).

Fig. 6: Wiederherstellung (rescue) des retroviralen Vektors MFGinsLacZ durch LCMV.

Die retrovirale env-negative Verpackungszelllinie TELCeB wurde durch LCMV bei einer m.o.i. von 0.01 infiziert. Zwischen Tag 1 und 7 nach Infektion wurden die Überstände täglich ersetzt, und es wurden die Titer des LCMV-Wildtyps und des LacZ-Vektors durch einen Plaque-Assay auf L-929 bzw. durch LacZ-Gentransfer auf Sc-1 ermittelt. Zusätzlich wurde ein Teil der LCMV-infizierten TELCeB-Zellen täglich mit einem gegen das LCMV-Glykoprotein GP-1 gerichteten monoklonalen Antikörper gefärbt und mittels Durchflußzytometrie analysiert. Es ist die mittlere Fluoreszenz gezeigt. O-O LCMV-Wildtyp-Titer; □-□ LacZ-Transfereinheiten; Δ-Δ mittlere Fluoreszenz der LCMV Glykoprotein GP-Expression.

Fig. 7: MLV(LCMV)-Pseudotypen bewahren ihre Infektivität nach Ultrazentrifugation.

TELCeB wurden mit LCMV oder amphotropem Helfervirus infiziert. Die Überstände wurden geerntet und eingefroren. Es wurden die MLV(LCMV)- und amphotropen Pseudotyp-Titer bestimmt. Gleiche Mengen des infektiösen Virus wurde mittels Ultrazentrifugation pelletiert und dann einer Reinigung an einem 0 % - 40 % Urografen-Gradienten unterworfen. Vektor-Titer und -dichten wurden in jeder Fraktion bestimmt. O-O amphotroper Pseudotyp; □-□ MLV(LCMV)-Pseudotyp.

SEQUENZPROTOKOLL

5 <110> Heinrich-Pette-Institut
 <120> Retrovirale, mit LCMV pseudotypisierte Hybrid-Vektoren
 <130> p050488
 10 <140>
 <141>
 <150> DE 198 56 463.5
 <151> 1998-11-26
 <160> 26
 15 <170> PatentIn Ver.. 2.0
 <210> 1
 <211> 3375
 <212> DNA
 20 <213> Lymphocytic choriomeningitis virus
 <400> 1
 cgcaccgggg atcctagggt ttttggattg cgctttcctt taggacaact ggggtctgga 60
 ttctatccag taaaaggatg ggtcagattg tgacaatgtt tgaggctttg cctcacatca 120
 ttgatgaggt catcaacatt gtcattattg tgctcattat aatcacgagc atcaaagctg 180
 25 tgtacaattt cgccacctgt gggatattag cactgggtcag cttccttttt ctggctggta 240
 ggctctgtgg catgtacggc cttaatggtc ccgatatcta taaaggggtt taccagtcca 300
 aatcagtggg gtttgatatg tctcacttaa atctgacgat gcccaatgcg tgctcagtca 360
 acaactctca tcaactacatc agtatgggaa gctctgggact ggagccaaact ttcaccaacg 420
 actccatcct taatcacaaac ttctgcaact taacctccgc tctcaacaaa aagctctttg 480
 accatacact catgagtata gtctcgagtc tacacctcag tatcagaggg aattccaact 540
 acaaagcagt gtcttgtgat ttaacaatg gcatcaccat tcaatacaac ttgtcatctt 600
 30 cggacccaca gagcgccatg agccagtgtg ggactttcag aggtagagtc ttggacatgt 660
 ttagaactgc ctttggagga aagtacatga gaagtggctg gggctggaca gggttcagatg 720
 gcaagaccac ttggtgcagc caaacaagct atcagtacct aatcatacaa aacaggactt 780
 gggaacacca ctgtagatat gcaggccctt ttgggatgtc tagaatccctc ttgtctcagg 840
 aaaagacaaa gtttctcact aggagacttt caggcacatt cacctggacc ctgtcagact 900
 cctcaggagt agaaaatcca ggtggttatt gcctgaccaa atggatgatc cttgtctgag 960
 35 agctcaaatg ttttgggaat acagctgttg caaaatgtaa tgtcaatcat gatgaagagt 1020
 tctgtgacat gctacgacta attgattaca acaaggctgc cctgagtaag ttcaagcaag 1080
 atgtagagtc tgccttgcat gtattcaaaa caacattaaa ttctctgatt tccgatcagc 1140
 tgttgatgag gaatcatcta agagatctaa tgggggtacc atactgtaat tactcaaagt 1200
 tctggatctt ggaacatgct aagactgggt agactagtgt acccaagtgt tggcttgtca 1260
 ctaatggctc ctacttgaat gagaccatt ttagtgatca aatcgaacaa gaagcagata 1320
 40 acatgatcac agagatgttg aggaaggact acataaaaag acaaggaggt actcctttag 1380
 ccttaatgga tcttttgatg ttttcaacat cagcatactt gatcagcatc tttctgcatt 1440
 ttgtgaggat accaaccacat agacacataa agggcggttc atgtccaaag ccacatcgct 1500
 tgaccaacaa ggggatctgt agttgtggtg cattcaagggt gcctgggtgta aaaactatct 1560
 ggaaaagacg ctgatcagca gcgcctccct gactctccac ctcgaaagag gtggagagtc 1620
 agggaggccc agcgggtctt agagtgtcac aacattgggt cctctgaaga tcaaatcatg 1680
 45 tggcaggatg ttgtgaacgg tcttttagatc agggagtctt gccttggaa gactctcaaa 1740
 gatgatgcag tccatgagtg cacagtgtgg ggtgatttct ttcttctttt tgtctctcac 1800
 taccocagtg tgcattttgc atagccagcc atatttgtcc cacactttat cttcatattc 1860
 tcttgaggcc tccttagtca tctcaacatc aatgagtttt atgtcccttc tattctgtga 1920
 gtccagaagc tttctgatgt catcagaacc ttgacagctc aagaccatcc cttgtgggag 1980
 agcacctata actgatgagg tcagcccagc ctgtgcattg aagagggtcag caagatccat 2040
 50 gccgtgtgaa tacttggagt cctgcttgaa ttgcttctgg tccgtagggt ctctgtaaaa 2100
 atgtatgaat tgcccatttt gtggttgaaa tattgtctatc tccactggat cattgaacct 2160
 gccttcaatg tcaatccatg tgggagcatt gggatcaatc cctcccatca agtctttcaa 2220
 cagcattgtt tgactgtaac tcaagcccac ctgaggtggg cctgctgctc caggcactgg 2280
 cctagatgag ttggccacaa gtttttcatt tgtgagatca attgtcgtgt tctcccatgc 2340

tctccccaca actgacgttc tacaggctat gtatggccat ccttcacctg aaagacagac 2400
 tttataaagg atgttttcat aaggatttct atccccaact tgatctgaga caaacatggt 2460
 gagtttcttc ttggcccaa ggactgcttt taggagatcc tctactattgc ttggtttgat 2520
 caaaatagat tccagcatgt tccctccatg tagcagagct gcccccgctt tcacagccgc 2580
 accaagactg aaattataac cagagatatt gatactagat tgctgttcag taatgacccc 2640
 cagaactggg tgtttatctt ttagcctttc taggtcactg agattcgggt atttgactgt 2700
 gtaaagtaag ccaaggctctg tgagtgcctg cacaacatca ttgagtgggg tctgtgactg 2760
 ttttgccatg caagccattg tcaggcttgg cattgtgccc aactgattgt tcagaagtga 2820
 tgagtccctc acatcccaaa cctttactac accacttgca ccctgctgag gtcttctcat 2880
 cccaaccatt tgcagtattt gggatctctg atcaagttgt tgtgctgtca aatttcccat 2940
 gtagactcca gaagcttgag gcctctcagt tctcataatt ttggccttca gcttctcaag 3000
 atcagctgca agggctcatca attcctctgc actaagtctt cccactttca gaacattttt 3060
 ctttgatgta gacttcggat caacaagaga atgcacagtc tggtaagac tcctgagtct 3120
 ctgcaagtct ttatcgtccc tcttttctt tctcatgac ctctgaacgt tgctgacttc 3180
 agaaaagtcc aacccattta gaagactgg tgctgccttg atgacggcag cctttacatc 3240
 tgatgtaaaa ccctgcaact ccttctcaa cgctgtgtc cactgaaagc ttttgacttc 3300
 tttggacaaa gacattttgt cacacaatga atttccaat aaaagcgaa tcaaatgcct 3360
 aggatccact gtgcg 3375

<210> 2

<211> 498

<212> PRT

<213> Lymphocytic choriomeningitis virus

<400> 2

Met Gly Gln Ile Val Thr Met Phe Glu Ala Leu Pro His Ile Ile Asp
 1 5 10 15
 Glu Val Ile Asn Ile Val Ile Ile Val Leu Ile Ile Ile Thr Ser Ile
 20 25 30
 Lys Ala Val Tyr Asn Phe Ala Thr Cys Gly Ile Leu Ala Leu Val Ser
 35 40 45
 Phe Leu Phe Leu Ala Gly Arg Ser Cys Gly Met Tyr Gly Leu Asn Gly
 50 55 60
 Pro Asp Ile Tyr Lys Gly Val Tyr Gln Phe Lys Ser Val Glu Phe Asp
 65 70 75 80
 Met Ser His Leu Asn Leu Thr Met Pro Asn Ala Cys Ser Val Asn Asn
 85 90 95
 Ser His His Tyr Ile Ser Met Gly Ser Ser Gly Leu Glu Pro Thr Phe
 100 105 110
 Thr Asn Asp Ser Ile Leu Asn His Asn Phe Cys Asn Leu Thr Ser Ala
 115 120 125
 Leu Asn Lys Lys Ser Phe Asp His Thr Leu Met Ser Ile Val Ser Ser
 130 135 140
 Leu His Leu Ser Ile Arg Gly Asn Ser Asn Tyr Lys Ala Val Ser Cys
 145 150 155 160
 Asp Phe Asn Asn Gly Ile Thr Ile Gln Tyr Asn Leu Ser Ser Ser Asp
 165 170 175
 Pro Gln Ser Ala Met Ser Gln Cys Arg Thr Phe Arg Gly Arg Val Leu
 180 185 190
 Asp Met Phe Arg Thr Ala Phe Gly Lys Tyr Met Arg Ser Gly Trp
 195 200 205
 Gly Trp Thr Gly Ser Asp Gly Lys Thr Thr Trp Cys Ser Gln Thr Ser
 210 215 220
 Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Arg Thr Trp Glu Asn His Cys Arg
 225 230 235 240
 Tyr Ala Gly Pro Phe Gly Met Ser Arg Ile Leu Phe Ala Gln Glu Lys
 245 250 255
 Thr Lys Phe Leu Thr Arg Arg Leu Ser Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu
 260 265 270
 Ser Asp Ser Ser Gly Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Lys
 275 280 285
 Trp Met Ile Leu Ala Ala Glu Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val
 290 295 300

Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg
 305 310 315 320
 Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Gln Asp Val
 325 330 335
 5 Glu Ser Ala Leu His Val Phe Lys Thr Thr Leu Asn Ser Leu Ile Ser
 340 345 350
 Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro
 355 360 365
 Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly
 370 375 380
 10 Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu
 385 390 395 400
 Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met
 405 410 415
 Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr
 420 425 430
 15 Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu
 435 440 445
 Ile Ser Ile Phe Leu His Phe Val Arg Ile Pro Thr His Arg His Ile
 450 455 460
 Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Asn Lys Gly Ile
 465 470 475 480
 20 Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Lys Thr Ile Trp Lys
 485 490 495
 Arg Arg

<210> 3
 <211> 3376
 <212> DNA
 <213> Lymphocytic choriomeningitis virus

<400> 3
 cgacacgggg atcctaggct ttttggattg cgctttcctc tagatcaact gggtgtcagg 60
 ccctatccta cagaaggatg ggtagatttg tgacaatgtt tgaggctctg cctcacatca 120
 30 tcgatgaggt gatcaacatt gtcattattg tgcttatcgt gatcacgggt atcaaggctg 180
 tctacaattt tgccacctgt gggatattcg cattgatcag tttcctactt ctggctggca 240
 ggctcgtgtg catgtacggt ctttaaggac ccgacattta caaaggagtt taccattta 300
 agtcagtggg gtttgatatg tcacatctga acctgacct gccaacgca tgttcagcca 360
 acaactccca ccattacatc agtatgggga cttctggact agaattgacc ttcaccaatg 420
 attccatcat cagtcacaac ttttgcaatc tgacctctgc cttcaacaaa agacctttg 480
 35 accacacact catgagtata gtttcgagcc tacacctcag tatcagaggg aactccaact 540
 ataaggcagt atcctgcgac ttcaacaatg gcataaccat ccaatacaac ttgacattct 600
 cagatcgaca aagtgtcag agccagtgtg gaaccttcag aggtagagtc ctgatatgt 660
 ttagaactgc cttcgggggg aaatacatga ggagtggctg gggctggaca ggctcagatg 720
 gcaagaccac ctggtgtagc cagacgagtt accaatacct gattatacaa aatagaacct 780
 gggaaaacca ctgcacatat gcagggtcctt ttgggatgtc caggattctc ctttcccaag 840
 40 agaagactaa gttcttcact aggagactag cgggcacatt cacctggact ttgtcagact 900
 cttcaggggt ggagaatcca ggtggttatt gcctgaccaa atggatgatt ctgtctgcag 960
 agcttaagtg tttcgggaac acagcagttg cgaatgcaa tgtaaatcat gatgccgaat 1020
 tctgtgacat gctgcgacta attgactaca acaaggctgc tttgagtaag ttcaaaagg 1080
 acgtagaatc tgccttgac ttattcaaaa caacagtga ttctttgatt tcagatcaac 1140
 tactgatgag gaaccacttg agagatctga tgggggtgcc atattgcaat tactcaaagt 1200
 tttggtacct agaactgca aagaccggcg aaactagtgt cccaagtgc tggcttgata 1260
 45 ccaatgggtt ttacttaaat gagaccact tcagtatca aatcgaacag gaagccgata 1320
 acatgattac agagatgttg aggaaggatt acataaagag gcaggggagt accccctag 1380
 cattgatgga ctttctgatg ttttccacat ctgcatactt agtcagcatc ttcctgcacc 1440
 ttgtcaaaat accaacacac aggcacataa aagggtggctc atgtccaaag ccacaccgat 1500
 taaccaacaa aggaatttgt agttgtgtg catttaaggt gcctggtgta aaaaccgtct 1560
 ggaaaagacg ctgaagaaca gcgcctccct gactctccac ctcgaaagag gtggagagtc 1620
 50 agggaggccc agagggtcct agagtgtcac aacatttggg cctctaaaaa ttaggtcatg 1680
 tggcagaatg ttgtgaacag ttttcagatc tgggagcctt gctttggagg cgctttcaaa 1740
 aatgatgcag tccatgagtg cacagtgcgg ggtgatctct ttcttctttt tgtcccttac 1800

5 tttccagta tgcattctac acaaccagcc atatttgtcc cacactttgt cttcatactc 1860
 cctcgaagct tccctgggtca tttcaacatc gataagctta atgtccttcc tattctgtga 1920
 gtccagaagc tttctgatgt catcggagcc ttgacagctt agaaccatcc cctgcggaag 1980
 agcacctata actgacgagg tcaacccggg ttgcgcatg aagaggctcg caagatccat 2040
 gccgtgtgag tacttggaa cttgcttgaa ttgttttga tcaacgggtt cctgtaaaa 2100
 gtgtatgaac tgcccgttct gtggttgaa aattgctatt tccactggat cattaaatct 2160
 accctcaatg tcaatccatg taggagcgtt ggggtcaatt cctcccatga ggtcttttaa 2220
 aagcattgtc tggtgttagc ttaagccac ctgaggtgga cctgctgctc caggcgctgg 2280
 cctgggtgaa ttgactgcag gtttctcgct ttgtgagatca attgttgtgt tttcccatgc 2340
 10 tctccccaca atcgatgttc tacaagctat gtatggccat ccttcacctg aaaggcaaac 2400
 tttatagagg atgttttcat aagggttcc tgcctcaact tggcttgaaa caaacatgtt 2460
 gagttttctc ttggccccga gaactgcctt caagagggtcc tcgctgttgc ttggcttgat 2520
 caaaattgac tctaaccatgt taccctcatc caacagggtc gccctgcct tcacggcagc 2580
 accaagacta aagttatagc cagaaatgtt gatgctggac tgctgttcag tgatgacccc 2640
 cagaactggg tgcttgtctt tcagcctttc aagatcatta agatttggat acttgactgt 2700
 gtaagcaag ccaaggtctg tgagcgttg tacaacgtca ttgagcggag tctgtgactg 2760
 15 tttggccata caagccatg tttagcttgg cattgtgcc aattgatgt tcaaaagtga 2820
 tgagctttc acatcccaa ctcttaccac accacttgca ccctgctgag gctttctcat 2880
 cccaactatc ttaggatctt gagatctttg gtctagttgc tgtgttgtta agttcccatc 2940
 atatacccct gaagcctggg gcctttcaga cctcatgac ttggccttca gcttctcaag 3000
 gtcagccgca agagacatca gttcttctgc actgagcctc cccactttca aaacattctt 3060
 ctttgatgtt gactttaaat ccacaagaga atgtacagtc tgggttagac tcttgagtct 3120
 20 ctgtaggctt ttgtcatctc tcttttctt cctcatgac ccttgaacat tgctgacctc 3180
 agagaagtcc aacccattca gaaggttgg ttgcatcctta atgacagcag ccttcacatc 3240
 tgatgtgaag ctctgcaatt ctcttctcaa tgcttgcgtc cattggaagc tcttaacttc 3300
 cttagacaag gacatcttgt tgctcaatgg tttctcaaga caaatgcgca atcaaatgcc 3360
 taggatccac tgtgcg

25 <210> 4
 <211> 498
 <212> PRT
 <213> Lymphocytic choriomeningitis virus

30 <220>
 <223> Hue11-Glycoprotein

35 <400> 4
 Met Gly Gln Ile Val Thr Met Phe Glu Ala Leu Pro His Ile Ile Asp
 1 5 10 15
 Glu Val Ile Asn Ile Val Ile Ile Val Leu Ile Val Ile Thr Gly Ile
 20 25 30
 35 Lys Ala Val Tyr Asn Phe Ala Thr Cys Gly Ile Phe Ala Leu Ile Ser
 35 40 45
 Phe Leu Leu Ala Gly Arg Ser Cys Gly Met Tyr Gly Leu Lys Gly
 50 55 60
 Pro Asp Ile Tyr Lys Gly Val Tyr Gln Phe Lys Ser Val Glu Phe Asp
 65 70 75 80
 40 Met Ser His Leu Asn Leu Thr Met Pro Asn Ala Cys Ser Ala Asn Asn
 85 90 95
 Ser His His Tyr Ile Ser Met Gly Thr Ser Gly Leu Glu Leu Thr Phe
 100 105 110
 Thr Asn Asp Ser Ile Ile Ser His Asn Phe Cys Asn Leu Thr Ser Ala
 115 120 125
 45 Phe Asn Lys Lys Thr Phe Asp His Thr Leu Met Ser Ile Val Ser Ser
 130 135 140
 Leu His Leu Ser Ile Arg Gly Asn Ser Asn Tyr Lys Ala Val Ser Cys
 145 150 155 160
 Asp Phe Asn Asn Gly Ile Thr Ile Gln Tyr Asn Leu Thr Phe Ser Asp
 165 170 175
 Arg Gln Ser Ala Gln Ser Gln Cys Arg Thr Phe Arg Gly Arg Val Leu
 180 185 190
 50 Asp Met Phe Arg Thr Ala Phe Gly Gly Lys Tyr Met Arg Ser Gly Trp
 195 200 205

55

Gly Trp Thr Gly Ser Asp Gly Lys Thr Thr Trp Cys Ser Gln Thr Ser
 210 215 220
 Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Arg Thr Trp Glu Asn His Cys Thr
 225 230 235 240
 Tyr Ala Gly Pro Phe Gly Met Ser Arg Ile Leu Leu Ser Gln Glu Lys
 245 250 255
 Thr Lys Phe Phe Thr Arg Arg Leu Ala Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu
 260 265 270
 Ser Asp Ser Ser Gly Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Lys
 275 280 285
 Trp Met Ile Leu Ala Ala Glu Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val
 290 295 300
 Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Ala Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg
 305 310 315 320
 Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Glu Asp Val
 325 330 335
 Glu Ser Ala Leu His Leu Phe Lys Thr Thr Val Asn Ser Leu Ile Ser
 340 345 350
 Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro
 355 360 365
 Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Thr Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly
 370 375 380
 Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu
 385 390 395 400
 Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met
 405 410 415
 Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr
 420 425 430
 Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu
 435 440 445
 Val Ser Ile Phe Leu His Leu Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile
 450 455 460
 Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Asn Lys Gly Ile
 465 470 475 480
 Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Lys Thr Val Trp Lys
 485 490 495
 Arg Arg

<210> 5
 <211> 558
 <212> PRT
 <213> Lymphocytic choriomeningitis virus

<220>
 <223> Nucleoprotein

<400> 5
 Met Ser Leu Ser Lys Glu Val Lys Ser Phe Gln Trp Thr Gln Ala Leu
 1 5 10 15
 Arg Arg Glu Leu Gln Ser Phe Thr Ser Asp Val Lys Ala Ala Val Ile
 20 25 30
 Lys Asp Ala Thr Asn Leu Leu Asn Gly Leu Asp Phe Ser Glu Val Ser
 35 40 45
 Asn Val Gln Arg Ile Met Arg Lys Glu Lys Arg Asp Asp Lys Asp Leu
 50 55 60
 Gln Arg Leu Arg Ser Leu Asn Gln Thr Val His Ser Leu Val Asp Leu
 65 70 75 80
 Lys Ser Thr Ser Lys Lys Asn Val Leu Lys Val Gly Arg Leu Ser Ala
 85 90 95
 Glu Glu Leu Met Ser Leu Ala Ala Asp Leu Glu Lys Leu Lys Ala Lys
 100 105 110

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Ile | Met | Arg | Ser | Glu | Arg | Pro | Gln | Ala | Ser | Gly | Val | Tyr | Met | Gly | Asn |
| | | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| 5 | Leu | Thr | Thr | Gln | Gln | Leu | Asp | Gln | Arg | Ser | Gln | Ile | Leu | Gln | Ile | Val |
| | | | 130 | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| | Gly | Met | Arg | Lys | Pro | Gln | Gln | Gly | Ala | Ser | Gly | Val | Val | Arg | Val | Trp |
| | 145 | | | | 150 | | | | | | 155 | | | | | 160 |
| | Asp | Val | Lys | Asp | Ser | Ser | Leu | Leu | Asn | Asn | Gln | Phe | Gly | Thr | Met | Pro |
| | | | | 165 | | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| 10 | Ser | Leu | Thr | Met | Ala | Cys | Met | Ala | Lys | Gln | Ser | Gln | Thr | Pro | Leu | Asn |
| | | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| | Asp | Val | Val | Gln | Ala | Leu | Thr | Asp | Leu | Gly | Leu | Leu | Tyr | Thr | Val | Lys |
| | | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| | Tyr | Pro | Asn | Leu | Asn | Asp | Leu | Glu | Arg | Leu | Lys | Asp | Lys | His | Pro | Val |
| | | 210 | | | | 215 | | | | | | 220 | | | | |
| 15 | Leu | Gly | Val | Ile | Thr | Glu | Gln | Gln | Ser | Ser | Ile | Asn | Ile | Ser | Gly | Tyr |
| | 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| | Asn | Phe | Ser | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Lys | Ala | Gly | Ala | Ala | Leu | Leu | Asp |
| | | | | 245 | | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| | Gly | Gly | Asn | Met | Leu | Glu | Ser | Ile | Leu | Ile | Lys | Pro | Ser | Asn | Ser | Glu |
| | | | 260 | | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| 20 | Asp | Leu | Leu | Lys | Ala | Val | Leu | Gly | Ala | Lys | Arg | Lys | Leu | Asn | Met | Phe |
| | | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| | Val | Ser | Asp | Gln | Val | Gly | Asp | Arg | Asn | Pro | Tyr | Glu | Asn | Ile | Leu | Tyr |
| | | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| | Lys | Val | Cys | Leu | Ser | Gly | Glu | Gly | Trp | Pro | Tyr | Ile | Ala | Cys | Arg | Thr |
| | 305 | | | | 310 | | | | | | 315 | | | | | 320 |
| 25 | Ser | Ile | Val | Gly | Arg | Ala | Trp | Glu | Asn | Thr | Thr | Ile | Asp | Leu | Thr | Ser |
| | | | | 325 | | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| | Glu | Lys | Pro | Ala | Val | Asn | Ser | Pro | Arg | Pro | Ala | Pro | Gly | Ala | Ala | Gly |
| | | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| | Pro | Pro | Gln | Val | Gly | Leu | Ser | Tyr | Ser | Gln | Thr | Met | Leu | Leu | Lys | Asp |
| | | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| 30 | Leu | Met | Gly | Gly | Ile | Asp | Pro | Asn | Ala | Pro | Thr | Trp | Ile | Asp | Ile | Glu |
| | | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| | Gly | Arg | Phe | Asn | Asp | Pro | Val | Glu | Ile | Ala | Ile | Phe | Gln | Pro | Gln | Asn |
| | 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| | Gly | Gln | Phe | Ile | His | Phe | Tyr | Arg | Glu | Pro | Val | Asp | Gln | Lys | Gln | Phe |
| | | | | 405 | | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| 35 | Lys | Gln | Asp | Ser | Lys | Tyr | Ser | His | Gly | Met | Asp | Leu | Ala | Asp | Leu | Phe |
| | | | 420 | | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| | Asn | Ala | Gln | Pro | Gly | Leu | Thr | Ser | Ser | Val | Ile | Gly | Ala | Leu | Pro | Gln |
| | | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| | Gly | Met | Val | Leu | Ser | Cys | Gln | Gly | Ser | Asp | Asp | Ile | Arg | Lys | Leu | Leu |
| | | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | |
| 40 | Asp | Ser | Gln | Asn | Arg | Lys | Asp | Ile | Lys | Leu | Ile | Asp | Val | Glu | Met | Thr |
| | 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 |
| | Arg | Glu | Ala | Ser | Arg | Glu | Tyr | Glu | Asp | Lys | Val | Trp | Asp | Lys | Tyr | Gly |
| | | | | 485 | | | | | | 490 | | | | | 495 | |
| | Trp | Leu | Cys | Lys | Met | His | Thr | Gly | Ile | Val | Arg | Asp | Lys | Lys | Lys | Lys |
| | | | 500 | | | | | | 505 | | | | | 510 | | |
| 45 | Glu | Ile | Thr | Pro | His | Cys | Ala | Leu | Met | Asp | Cys | Ile | Ile | Phe | Glu | Ser |
| | | | 515 | | | | | 520 | | | | | 525 | | | |
| | Ala | Ser | Lys | Ala | Arg | Leu | Pro | Asp | Leu | Lys | Thr | Val | His | Asn | Ile | Leu |
| | | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |
| | Pro | His | Asp | Leu | Ile | Phe | Arg | Gly | Pro | Asn | Val | Val | Thr | Leu | | |
| 50 | | | | | | 550 | | | | | 555 | | | | | |
| | 545 | | | | | | | | | | | | | | | |

<210> 6
 <211> 6680
 <212> DNA
 5 <213> Lymphocytic choriomeningitis virus

<400> 6
 cgccaccgagg atcctaggct ttttgatgcg caatggatga aatcatctca gaattgagag 60
 agttatgttt aaactatata gaacaggatg agagggtgtc aaggcagaaa ctcaactttc 120
 tgggacaaag ggaacccaga atgggttctga ttgagggact caagttgctg tcacgctgca 180
 10 ttgaaataga cagtgcagac aagagtggtc gcacacacaa ccacgacgat aagttctgtg 240
 aaacaattttt ggtggagtct ggaattgtat gcccaggact accacttatt attcctgatg 300
 gttacaagct gatagacaat tctctcattc ttcttgagtg ttttgtagg agctcaccag 360
 ccagttttga gaagaaattt atagaggaca ctaacaaatt ggcatgcac aggggaagacc 420
 ttgctgttgc ggggtgtcaca ttagtccaa tagtagatgg tcgttgtgat tatgataata 480
 gttttatgcc agagtgggca aacttcaaat ttagagacct tttattcaaa cttttggagt 540
 attctaacca aaatgagaaa gtctttgaag agtctgaata ttttagactc tgtgagctcc 600
 15 tgaagactac tatcgacaag cgctccggtg tggactctat gaaaaattctg aaagatgcga 660
 ggtcaactca caatgatgaa attatgagga tgtgccacga aggcatacaac cccaacatga 720
 gctgtgatga tgtggttttt ggaataaaact ctcttttcag caggtttaga agagatttag 780
 aaagtgggaa attaaagaga aacttttcaga aagtaaaccct tgaaggcttg atcaaggaat 840
 tctctgagct ctatgaaaac cttgctgata gtgatgatat cttaacatta agcaggagg 900
 cagtcgaatc ctgtcttttg atgagattca taactgcaga gacccatggg cacgaaaggg 960
 20 gaagtgagac tagcactgaa tatgagaggc tcctctctat gttaaacaaa gtcaagaggt 1020
 tgaaactggt gaatactaga aggagacagt tgttaaatct ggaatgtttg tgtctttcct 1080
 cattgataaa acagtcgaaa ttcaaaagggt taaaaaatga taaacactgg gtgggttgtt 1140
 gctatagtag tgtgaatgat aggctggtaa gctttcacag cactaaagag gatttcatta 1200
 gacttttgag gaatagaaaa aagtcaaaagg tgtttagaaa ggtgtctttt gaggaaattg 1260
 tttagggcgtc tattagtgag ttcattgcaa aaattcaaaa atgcctgtta gtgtgggac 1320
 25 ttaggtttcga gcattacgga ctgtctgaac acctgagca agaatgccac ataccattca 1380
 ctgaatttga gaactttatg aaaaattggag ctaccccgat aatgtattat acgaagttt 1440
 aagattacaa ttccaacccc agcacagagc agctgaagaa catacagagc ctgagaagat 1500
 tatcatctgt ttgtctggcc ttaacaaaca gtatgaaaac tagctcagtt gctagactaa 1560
 ggcaaaatca aataggggtc gtgagatatt aagtggtaga atgcaaaaga gtgttttgcc 1620
 aagtaataaa actggactct gaagaatacc acctattata ccagaagact ggagaatctt 1680
 caaggtgcta ctccatacaa ggcccgatg gtcatttaatt ttccttctat gcagatccta 1740
 30 aaaggttctt tttaaccaatt ttttcagatg aggtcttata caatatgata gacatcatga 1800
 tttcatggat tagatcatgt cctgatttga aagactgtct caccgacatt gaggttgcac 1860
 tgaggaccct attgttgcta atgctcacca acccaacaaa gagaaatcaa aagcagggtac 1920
 agagtgtcag atatttgggt atggcaatag tgtcagattt ttcattctaca tcattaatgg 1980
 ataagttgag ggaggatctg atcacacctg ctgagaagggt ggtgtataag ctgcttagat 2040
 35 ttctaataaa aactattttt ggtactgggt agaaggtgtt gttgagtgc aaattttaat 2100
 ttatgttgaa tgtgtcatac ctgtgtcatt tgatcacaaa ggagaccctt gacaggctaa 2160
 cagatcagat aaaaatgtttt gaaaagttct ttgagcccaa aagtcaattt ggtttttttg 2220
 tcaaccccaa ggaagcaatc actcctgagg aagaatgtgt gttctatgag caaatgaaga 2280
 gattcactag taaagaaatt gactgtcagc atacaactcc aggtgttaat ctggaagcct 2340
 tttagcctaag ggtgtcttca ttttaacaac gcactttaat tttcaaagga gagaagaagc 2400
 taaacagcct agatcccatg actaactctg gatgtgcgac agcattagat cttgctagta 2460
 40 acaaaagtgt ggtgggttaat aagcatctaa atggagaacg acttctggaa tatgacttta 2520
 acaaaattgct tgttagtgct gtgagtcaaa ttacggagag tttcgtaga aaacaaaagt 2580
 ataagttgag ccactcagac tatgaatata aagtttccaa gttagtctct agattgggtca 2640
 tcggtttccaa gggagaagag acaggggagat cggaagacaa cctggcagaa atatgttttg 2700
 atggagaaga agagacaagc ttcttcaaaa gtctcgaaga aaagggtcaac accacaatag 2760
 cacgggtacag aagaggtagg agggccaatg acaaaaggaga tggagaaaaa cttacaaata 2820
 caaaaggact acatcattta cagcttattc taacagggaa gatggctcac ttaagaaaaa 2880
 45 ttatcttgtc agaaatatct ttccatttag tagaagactt tgacccatca tgtctaacca 2940
 atgatgacat gaaatttatc tgtgaggctg ttgagggttc cacagagctg tcacctttgt 3000
 atttcacctc agtcattaaa gatcagtgtg gcctcgatga gatggcaaaa aacctttgta 3060
 gaaagttctt ttctgagaat gattggtttt ctgtcatgaa gatgattctg ttgcaaatga 3120
 atgcaaatgc gtactcaggg aaatacaggc atatgcaaa gcaaggcttg aatttcaaat 3180
 ttgactggga caaactggaa gaagacgtga gaatcagtga gagggaaagt aattctgagt 3240
 50 cccttagtaa agctctgtcg ttgacaaaaa gtatgagtgc tgctttgaaa aatctgtgct 3300
 tctactcaga agaatacaca acctcagtag cctcagtagg tcctgactct ggaaggctga 3360
 aatttgcact atcttataaa gagcaggttg ggggaaatag agaactctat attggagatt 3420
 tgaggacaaa aatgttcaca aggttaatat aagattattt tgagtctttt tcaagtttct 3480

5 tttcaggctc ctgtttaaac aatgataagg aattttgaaa tgcaatcttg tcaatgacta 3540
 tcaatgtgcg ggaagggttc ttaaactata gtatggatca cagcaaatgg ggaccaatga 3600
 tgtgcccatt tttgttctta atgtttctac actagggtgat gaccagtatg 3660
 tgcgtttccg gaaagatcat gtagcactt tgtaaacttg gcacatgcat aagcttgctg 3720
 aggtccccc tctctgtgtg aatgcaatga tgaaatcata tgtcaagtcg aagctaaaaac 3780
 ttctcagggg ttcagaaaca actgttactg agagaatttt cagacaatat tttgaaatgg 3840
 ggatagtgc atcccatata tccagcctta ttgatattgg gcagggaatc ttgcataatg 3900
 cttctgactt ctatggtttg cttagcgaga gggttcatca ctactgcatt ggtgttatct 3960
 ttggcgaaag accagaggct tacacatcaa gtgatgatca gatcacttta tttgatagga 4020
 10 ggttgagtga cctggttgta agtgatccgg aggaagtcct tgtcctgttg gaattccaat 4080
 ctcatctgag cggcttgta aacaaattta tcagcccaaa aagtgtggct gggaggttcg 4140
 ctgcagaatt taaatctaga ttctatgtat ggggggaggga agtccctctt ctcacaaagt 4200
 ttgtatctgc agcgctacac aatgtcaagt gtaagagcc acatcaactt tgtgaaacaa 4260
 tagatacaat tgcagatcaa gccatcgcaa atggcgctcc agtctcccta gttaatagta 4320
 tccaaaggag aacactggac ctctctaaagt atgccaattt ccttttggat ccatttctac 4380
 15 tgaataccaa cactgatgtg aaagattggc tggatgggtc tagaggttac agaatacaaa 4440
 gactcattga ggaactgtgt cctaataaaa caaagggtgt aagaaagctt gtaaggaaac 4500
 tgcatacaaa gctcaaaaat ggtgaattta atgaagaatt tttcttagac ctatttaaca 4560
 gagataaaaac ggaggccatt cttcaattgg gagacctcct cggctctgaa gaagatctga 4620
 atcagttagc agatgttaac tgggtgaatt tgaatgaaat gttcccatta aggatggttt 4680
 taagacaaaa ggtgggttat ccatcagtga tgactttcca agaggaaaaga atcccacat 4740
 20 tgatcaagac actccagaac aaactttgta gtaaattcac aagggggtgca cagaagctgc 4800
 tgtcagaagc aatcaacaag tcagctttcc agagtgtgat ctcatctggc tttataggcc 4860
 tttgcaaaac tctaggaagc aggtgtgtga gaaacaaaaa tagggaaaat ctgtatatca 4920
 aaaagctgct tgaggatcta accacagatg atcatgtgac aagagtgttc aatcgggatg 4980
 gtataacgct gtacatttgt gacaaacagt ctcattccaga agcccaccgt gatcatatat 5040
 gccttttaag gcctcttctt tgggactaca ttgtattttc attgagcaac tcttttgagt 5100
 25 tgggtgtttg ggtccttagca gaaccgacca aagggaagaa taacagttag aacctaaact 5160
 ttaagcactt aaacccatgt gattatgtag caagaaaagc tgagagctca agctactgg 5220
 aggacaaagt gaatttgaac caagtgttc aatctgtgag gcggtatat cccaagatct 5280
 ttgaggatca gcttcttcca tttatgtctg acatgagctc aaaaaacatg aggtggagtc 5340
 ccagaattaa attccttgac ctctgtgttt taattgatat taactcagaa tcttgtcac 5400
 30 tcatttctca tgtgttaag tggaaaaggg atgaacatta cactgttctg ttttctgacc 5460
 ttgccaatc tcatcagcga tctgactcca gtctgggtga tgaatttgtt gtttagcacga 5520
 gggatgtctg caagaacttc ttaaaacagg tgtattttga atcatttgtt cgagaatttg 5580
 ttgcaacaac caggacatta ggcaattttt catgggtccc tcataaagaa atgatgccat 5640
 ctgaagatgg tgctgaggca ctggggccct ttcaatcatt tgtctcaaag gtggtgaaca 5700
 aaaatgtgga gaggcctatg tttaggaatg atttgcagtt tgggttttggg tggttctctt 5760
 accgaatggg agatgttgtg tgtaattgtc ccatgttgat taggcagggc ctgacaaacc 5820
 caaaggcatt taaatcctta aaggatctgt gggactacat gctcaactac acaaaagggg 5880
 35 tattggagtt ttcaatttca gtggacttta cgcacaatca gaataatact gactgtttaa 5940
 ggaaattttc attgatattc ttgggttaggt gccaatata gaatccaggt gtggctgaac 6000
 ttttatcatg ctctcacctc ttttaagggtg agatagatag aagaatgttg gatgaatgcc 6060
 tccacttact gaggacagac tctgtcttca aggtgaacga tgggtgtctt gatatcagat 6120
 ctgaagagtt tgaggattac atggaagatc ccttgatact tgggtgattc cttgagcttg 6180
 agttgttggg ctccaaaaga atactggatg ggattagatc tattgacttt gagagagttg 6240
 40 gacctgagtg ggagcctgtg ccactgactg taaagatggg tgcccttttt gaaggaaaga 6300
 accttgtcca aaatatcatt gtgaagctgg agaccaagga catgaaagtc tttctagcag 6360
 gacttgaggg ctatgaaaag attagtgtatg tccttgggaa cctcttctctg catcgattca 6420
 gaactggtga acatttgttg ggttcagaga taagtgtaat cctccaggaa ctatgtatag 6480
 acagatctat tctgctgatt ccactgtcgc ttttgccaga ctggttcgcc ttaaggatt 6540
 gcagactttg ttttagcaaa tctaggagca cttttagtga tgaaatagtg gggggcaggt 6600
 45 ttagactcaa ggggagggtc tgcgacgatt ggctaggcgg gtcggtggcc gaggacatcg 6660
 actgatgggc atctcctggg

<210> 7

<211> 2210

<212> PRT

<213> Lymphocytic choriomeningitis virus

50

<220>

<223> L-Protein

55

<400> 7
 Met Asp Glu Ile Ile Ser Glu Leu Arg Glu Leu Cys Leu Asn Tyr Ile
 1 5 10 15
 5 Glu Gln Asp Glu Arg Leu Ser Arg Gln Lys Leu Asn Phe Leu Gly Gln
 20 25 30
 Arg Glu Pro Arg Met Val Leu Ile Glu Gly Leu Lys Leu Ser Arg
 35 40 45
 Cys Ile Glu Ile Asp Ser Ala Asp Lys Ser Gly Cys Thr His Asn His
 50 55 60
 10 Asp Asp Lys Ser Val Glu Thr Ile Leu Val Glu Ser Gly Ile Val Cys
 65 70 75 80
 Pro Gly Leu Pro Leu Ile Ile Pro Asp Gly Tyr Lys Leu Ile Asp Asn
 85 90 95
 Ser Leu Ile Leu Leu Glu Cys Phe Val Arg Ser Ser Pro Ala Ser Phe
 100 105 110
 15 Glu Lys Lys Phe Ile Glu Asp Thr Asn Lys Leu Ala Cys Ile Arg Glu
 115 120 125
 Asp Leu Ala Val Ala Gly Val Thr Leu Val Pro Ile Val Asp Gly Arg
 130 135 140
 Cys Asp Tyr Asp Asn Ser Phe Met Pro Glu Trp Ala Asn Phe Lys Phe
 145 150 155 160
 20 Arg Asp Leu Leu Phe Lys Leu Leu Glu Tyr Ser Asn Gln Asn Glu Lys
 165 170 175
 Val Phe Glu Glu Ser Glu Tyr Phe Arg Leu Cys Glu Ser Leu Lys Thr
 180 185 190
 Thr Ile Asp Lys Arg Ser Gly Met Asp Ser Met Lys Ile Leu Lys Asp
 195 200 205
 Ala Arg Ser Thr His Asn Asp Glu Ile Met Arg Met Cys His Glu Gly
 210 215 220
 25 Ile Asn Pro Asn Met Ser Cys Asp Asp Val Val Phe Gly Ile Asn Ser
 225 230 235 240
 Leu Phe Ser Arg Phe Arg Arg Asp Leu Glu Ser Gly Lys Leu Lys Arg
 245 250 255
 Asn Phe Gln Lys Val Asn Pro Glu Gly Leu Ile Lys Glu Phe Ser Glu
 260 265 270
 30 Leu Tyr Glu Asn Leu Ala Asp Ser Asp Asp Ile Leu Thr Leu Ser Arg
 275 280 285
 Glu Ala Val Glu Ser Cys Pro Leu Met Arg Phe Ile Thr Ala Glu Thr
 290 295 300
 His Gly His Glu Arg Gly Ser Glu Thr Ser Thr Glu Tyr Glu Arg Leu
 305 310 315 320
 35 Leu Ser Met Leu Asn Lys Val Lys Ser Leu Lys Leu Leu Asn Thr Arg
 325 330 335
 Arg Arg Gln Leu Leu Asn Leu Asp Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ile
 340 345 350
 Lys Gln Ser Lys Phe Lys Gly Leu Lys Asn Asp Lys His Trp Val Gly
 355 360 365
 40 Cys Cys Tyr Ser Ser Val Asn Asp Arg Leu Val Ser Phe His Ser Thr
 370 375 380
 Lys Glu Glu Phe Ile Arg Leu Leu Arg Asn Arg Lys Lys Ser Lys Val
 385 390 395 400
 Phe Arg Lys Val Ser Phe Glu Glu Leu Phe Arg Ala Ser Ile Ser Glu
 405 410 415
 Phe Ile Ala Lys Ile Gln Lys Cys Leu Leu Val Val Gly Leu Ser Phe
 420 425 430
 45 Glu His Tyr Gly Leu Ser Glu His Leu Glu Gln Glu Cys His Ile Pro
 435 440 445
 Phe Thr Glu Phe Glu Asn Phe Met Lys Ile Gly Ala His Pro Ile Met
 450 455 460
 Tyr Tyr Thr Lys Phe Glu Asp Tyr Asn Phe Gln Pro Ser Thr Glu Gln
 465 470 475 480
 50 Leu Lys Asn Ile Gln Ser Leu Arg Arg Leu Ser Ser Val Cys Leu Ala
 485 490 495

Leu Thr Asn Ser Met Lys Thr Ser Ser Val Ala Arg Leu Arg Gln Asn
 500 505 510
 Gln Ile Gly Ser Val Arg Tyr Gln Val Val Glu Cys Lys Glu Val Phe
 515 520 525
 Cys Gln Val Ile Lys Leu Asp Ser Glu Glu Tyr His Leu Leu Tyr Gln
 530 535 540
 Lys Thr Gly Glu Ser Ser Arg Cys Tyr Ser Ile Gln Gly Pro Asp Gly
 545 550 555 560
 His Leu Ile Ser Phe Tyr Ala Asp Pro Lys Arg Phe Phe Leu Pro Ile
 565 570 575
 Phe Ser Asp Glu Val Leu Tyr Asn Met Ile Asp Ile Met Ile Ser Trp
 580 585 590
 Ile Arg Ser Cys Pro Asp Leu Lys Asp Cys Leu Thr Asp Ile Glu Val
 595 600 605
 Ala Leu Arg Thr Leu Leu Leu Met Leu Thr Asn Pro Thr Lys Arg
 610 615 620
 Asn Gln Lys Gln Val Gln Ser Val Arg Tyr Leu Val Met Ala Ile Val
 625 630 635 640
 Ser Asp Phe Ser Ser Thr Ser Leu Met Asp Lys Leu Arg Glu Asp Leu
 645 650 655
 Ile Thr Pro Ala Glu Lys Val Val Tyr Lys Leu Leu Arg Phe Leu Ile
 660 665 670
 Lys Thr Ile Phe Gly Thr Gly Glu Lys Val Leu Leu Ser Ala Lys Phe
 675 680 685
 Lys Phe Met Leu Asn Val Ser Tyr Leu Cys His Leu Ile Thr Lys Glu
 690 695 700
 Thr Pro Asp Arg Leu Thr Asp Gln Ile Lys Cys Phe Glu Lys Phe Phe
 705 710 715 720
 Glu Pro Lys Ser Gln Phe Gly Phe Phe Val Asn Pro Lys Glu Ala Ile
 725 730 735
 Thr Pro Glu Glu Glu Cys Val Phe Tyr Glu Gln Met Lys Arg Phe Thr
 740 745 750
 Ser Lys Glu Ile Asp Cys Gln His Thr Thr Pro Gly Val Asn Leu Glu
 755 760 765
 Ala Phe Ser Leu Met Val Ser Ser Phe Asn Asn Gly Thr Leu Ile Phe
 770 775 780
 Lys Gly Glu Lys Lys Leu Asn Ser Leu Asp Pro Met Thr Asn Ser Gly
 785 790 795 800
 Cys Ala Thr Ala Leu Asp Leu Ala Ser Asn Lys Ser Val Val Val Asn
 805 810 815
 Lys His Leu Asn Gly Glu Arg Leu Leu Glu Tyr Asp Phe Asn Lys Leu
 820 825 830
 Leu Val Ser Ala Val Ser Gln Ile Thr Glu Ser Phe Val Arg Lys Gln
 835 840 845
 Lys Tyr Lys Leu Ser His Ser Asp Tyr Glu Tyr Lys Val Ser Lys Leu
 850 855 860
 Val Ser Arg Leu Val Ile Gly Ser Lys Gly Glu Glu Thr Gly Arg Ser
 865 870 875 880
 Glu Asp Asn Leu Ala Glu Ile Cys Phe Asp Gly Glu Glu Glu Thr Ser
 885 890 895
 Phe Phe Lys Ser Leu Glu Glu Lys Val Asn Thr Thr Ile Ala Arg Tyr
 900 905 910
 Arg Arg Gly Arg Arg Ala Asn Asp Lys Gly Asp Gly Glu Lys Leu Thr
 915 920 925
 Asn Thr Lys Gly Leu His His Leu Gln Leu Ile Leu Thr Gly Lys Met
 930 935 940
 Ala His Leu Arg Lys Val Ile Leu Ser Glu Ile Ser Phe His Leu Val
 945 950 955 960
 Glu Asp Phe Asp Pro Ser Cys Leu Thr Asn Asp Asp Met Lys Phe Ile
 965 970 975
 Cys Glu Ala Val Glu Gly Ser Thr Glu Leu Ser Pro Leu Tyr Phe Thr
 980 985 990
 Ser Val Ile Lys Asp Gln Cys Gly Leu Asp Glu Met Ala Lys Asn Leu
 995 1000 1005

Cys Arg Lys Phe Phe Ser Glu Asn Asp Trp Phe Ser Cys Met Lys Met
 1010 1015 1020
 Ile Leu Leu Gln Met Asn Ala Asn Ala Tyr Ser Gly Lys Tyr Arg His
 1025 1030 1035 1040
 Met Gln Arg Gln Gly Leu Asn Phe Lys Phe Asp Trp Asp Lys Leu Glu
 1045 1050 1055
 Glu Asp Val Arg Ile Ser Glu Arg Glu Ser Asn Ser Glu Ser Leu Ser
 1060 1065 1070
 Lys Ala Leu Ser Leu Thr Lys Cys Met Ser Ala Ala Leu Lys Asn Leu
 1075 1080 1085
 Cys Phe Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Thr Ser Tyr Thr Ser Val Gly Pro
 1090 1095 1100
 Asp Ser Gly Arg Leu Lys Phe Ala Leu Ser Tyr Lys Glu Gln Val Gly
 1105 1110 1115 1120
 Gly Asn Arg Glu Leu Tyr Ile Gly Asp Leu Arg Thr Lys Met Phe Thr
 1125 1130 1135
 Arg Leu Ile Glu Asp Tyr Phe Glu Ser Phe Ser Ser Phe Phe Ser Gly
 1140 1145 1150
 Ser Cys Leu Asn Asn Asp Lys Glu Phe Glu Asn Ala Ile Leu Ser Met
 1155 1160 1165
 Thr Ile Asn Val Arg Glu Gly Phe Leu Asn Tyr Ser Met Asp His Ser
 1170 1175 1180
 Lys Trp Gly Pro Met Met Cys Pro Phe Leu Phe Leu Met Phe Leu Gln
 1185 1190 1195 1200
 Asn Leu Lys Leu Gly Asp Asp Gln Tyr Val Arg Ser Gly Lys Asp His
 1205 1210 1215
 Val Ser Thr Leu Thr Trp His Met His Lys Leu Val Glu Val Pro
 1220 1225 1230
 Phe Pro Val Val Asn Ala Met Met Lys Ser Tyr Val Lys Ser Lys Leu
 1235 1240 1245
 Lys Leu Leu Arg Gly Ser Glu Thr Thr Val Thr Glu Arg Ile Phe Arg
 1250 1255 1260
 Gln Tyr Phe Glu Met Gly Ile Val Pro Ser His Ile Ser Ser Leu Ile
 1265 1270 1275 1280
 Asp Met Gly Gln Gly Ile Leu His Asn Ala Ser Asp Phe Tyr Gly Leu
 1285 1290 1295
 Leu Ser Glu Arg Phe Ile Asn Tyr Cys Ile Gly Val Ile Phe Gly Glu
 1300 1305 1310
 Arg Pro Glu Ala Tyr Thr Ser Ser Asp Asp Gln Ile Thr Leu Phe Asp
 1315 1320 1325
 Arg Arg Leu Ser Asp Leu Val Val Ser Asp Pro Glu Glu Val Leu Val
 1330 1335 1340
 Leu Leu Glu Phe Gln Ser His Leu Ser Gly Leu Leu Asn Lys Phe Ile
 1345 1350 1355 1360
 Ser Pro Lys Ser Val Ala Gly Arg Phe Ala Ala Glu Phe Lys Ser Arg
 1365 1370 1375
 Phe Tyr Val Trp Gly Glu Glu Val Pro Leu Leu Thr Lys Phe Val Ser
 1380 1385 1390
 Ala Ala Leu His Asn Val Lys Cys Lys Glu Pro His Gln Leu Cys Glu
 1395 1400 1405
 Thr Ile Asp Thr Ile Ala Asp Gln Ala Ile Ala Asn Gly Val Pro Val
 1410 1415 1420
 Ser Leu Val Asn Ser Ile Gln Arg Arg Thr Leu Asp Leu Leu Lys Tyr
 1425 1430 1435 1440
 Ala Asn Phe Pro Leu Asp Pro Phe Leu Leu Asn Thr Asn Thr Asp Val
 1445 1450 1455
 Lys Asp Trp Leu Asp Gly Ser Arg Gly Tyr Arg Ile Gln Arg Leu Ile
 1460 1465 1470
 Glu Glu Leu Cys Pro Asn Glu Thr Lys Val Val Arg Lys Leu Val Arg
 1475 1480 1485
 Lys Leu His His Lys Leu Lys Asn Gly Glu Phe Asn Glu Glu Phe Phe
 1490 1495 1500
 Leu Asp Leu Phe Asn Arg Asp Lys Thr Glu Ala Ile Leu Gln Leu Gly
 1505 1510 1515 1520

Asp Leu Leu Gly Leu Glu Glu Asp Leu Asn Gln Leu Ala Asp Val Asn
 1525 1530 1535
 Trp Leu Asn Leu Asn Glu Met Phe Pro Leu Arg Met Val Leu Arg Gln
 1540 1545 1550
 Lys Val Val Tyr Pro Ser Val Met Thr Phe Gln Glu Glu Arg Ile Pro
 1555 1560 1565
 Ser Leu Ile Lys Thr Leu Gln Asn Lys Leu Cys Ser Lys Phe Thr Arg
 1570 1575 1580
 Gly Ala Gln Lys Leu Leu Ser Glu Ala Ile Asn Lys Ser Ala Phe Gln
 1585 1590 1595 1600
 Ser Cys Ile Ser Ser Gly Phe Ile Gly Leu Cys Lys Thr Leu Gly Ser
 1605 1610 1615
 Arg Cys Val Arg Asn Lys Asn Arg Glu Asn Leu Tyr Ile Lys Lys Leu
 1620 1625 1630
 Leu Glu Asp Leu Thr Thr Asp Asp His Val Thr Arg Val Cys Asn Arg
 1635 1640 1645
 Asp Gly Ile Thr Leu Tyr Ile Cys Asp Lys Gln Ser His Pro Glu Ala
 1650 1655 1660
 His Arg Asp His Ile Cys Leu Leu Arg Pro Leu Leu Trp Asp Tyr Ile
 1665 1670 1675 1680
 Cys Ile Ser Leu Ser Asn Ser Phe Glu Leu Gly Val Trp Val Leu Ala
 1685 1690 1695
 Glu Pro Thr Lys Gly Lys Asn Asn Ser Glu Asn Leu Thr Leu Lys His
 1700 1705 1710
 Leu Asn Pro Cys Asp Tyr Val Ala Arg Lys Pro Glu Ser Ser Arg Leu
 1715 1720 1725
 Leu Glu Asp Lys Val Asn Leu Asn Gln Val Ile Gln Ser Val Arg Arg
 1730 1735 1740
 Leu Tyr Pro Lys Ile Phe Glu Asp Gln Leu Leu Pro Phe Met Ser Asp
 1745 1750 1755 1760
 Met Ser Ser Lys Asn Met Arg Trp Ser Pro Arg Ile Lys Phe Leu Asp
 1765 1770 1775
 Leu Cys Val Leu Ile Asp Ile Asn Ser Glu Ser Leu Ser Leu Ile Ser
 1780 1785 1790
 His Val Val Lys Trp Lys Arg Asp Glu His Tyr Thr Val Leu Phe Ser
 1795 1800 1805
 Asp Leu Ala Asn Ser His Gln Arg Ser Asp Ser Ser Leu Val Asp Glu
 1810 1815 1820
 Phe Val Val Ser Thr Arg Asp Val Cys Lys Asn Phe Leu Lys Gln Val
 1825 1830 1835 1840
 Tyr Phe Glu Ser Phe Val Arg Glu Phe Val Ala Thr Thr Arg Thr Leu
 1845 1850 1855
 Gly Asn Phe Ser Trp Phe Pro His Lys Glu Met Met Pro Ser Glu Asp
 1860 1865 1870
 Gly Ala Glu Ala Leu Gly Pro Phe Gln Ser Phe Val Ser Lys Val Val
 1875 1880 1885
 Asn Lys Asn Val Glu Arg Pro Met Phe Arg Asn Asp Leu Gln Phe Gly
 1890 1895 1900
 Phe Gly Trp Phe Ser Tyr Arg Met Gly Asp Val Val Cys Asn Ala Ala
 1905 1910 1915 1920
 Met Leu Ile Arg Gln Gly Leu Thr Asn Pro Lys Ala Phe Lys Ser Leu
 1925 1930 1935
 Lys Asp Leu Trp Asp Tyr Met Leu Asn Tyr Thr Lys Gly Val Leu Glu
 1940 1945 1950
 Phe Ser Ile Ser Val Asp Phe Thr His Asn Gln Asn Asn Thr Asp Cys
 1955 1960 1965
 Leu Arg Lys Phe Ser Leu Ile Phe Leu Val Arg Cys Gln Leu Gln Asn
 1970 1975 1980
 Pro Gly Val Ala Glu Leu Leu Ser Cys Ser His Leu Phe Lys Gly Glu
 1985 1990 1995 2000
 Ile Asp Arg Arg Met Leu Asp Glu Cys Leu His Leu Leu Arg Thr Asp
 2005 2010 2015
 Ser Val Phe Lys Val Asn Asp Gly Val Phe Asp Ile Arg Ser Glu Glu
 2020 2025 2030

Phe Glu Asp Tyr Met Glu Asp Pro Leu Ile Leu Gly Asp Ser Leu Glu
 2035 2040 2045
 Leu Glu Leu Leu Gly Ser Lys Arg Ile Leu Asp Gly Ile Arg Ser Ile
 2050 2055 2060
 Asp Phe Glu Arg Val Gly Pro Glu Trp Glu Pro Val Pro Leu Thr Val
 2065 2070 2075 2080
 Lys Met Gly Ala Leu Phe Glu Gly Arg Asn Leu Val Gln Asn Ile Ile
 2085 2090 2095
 Val Lys Leu Glu Thr Lys Asp Met Lys Val Phe Leu Ala Gly Leu Glu
 2100 2105 2110
 Gly Tyr Glu Lys Ile Ser Asp Val Leu Gly Asn Leu Phe Leu His Arg
 2115 2120 2125
 Phe Arg Thr Gly Glu His Leu Leu Gly Ser Glu Ile Ser Val Ile Leu
 2130 2135 2140
 Gln Glu Leu Cys Ile Asp Arg Ser Ile Leu Leu Ile Pro Leu Ser Leu
 2145 2150 2155 2160
 Leu Pro Asp Trp Phe Ala Phe Lys Asp Cys Arg Leu Cys Phe Ser Lys
 2165 2170 2175
 Ser Arg Ser Thr Leu Met Tyr Glu Ile Val Gly Gly Arg Phe Arg Leu
 2180 2185 2190
 Lys Gly Arg Ser Cys Asp Asp Trp Leu Gly Gly Ser Val Ala Glu Asp
 2195 2200 2205
 Ile Asp
 2210

<210> 8
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Lymphocytic choriomeningitis virus
 <220>
 <223> Unbekanntes Protein

<400> 8
 Met Ser Ser Ala Thr Asp Pro Pro Ser Gln Ser Ser Gln Asp Leu Pro
 1 5 10 15
 Leu Ser Leu Asn Leu Pro Pro Thr Ile Ser Tyr Ile Lys Val Leu Leu
 20 25 30
 Asp Leu Leu Lys Gln Ser Leu Gln Ser Leu Lys Ala Asn Gln Ser Gly
 35 40 45
 Lys Ser Asp Ser Gly Ile Ser Arg Ile Asp Leu Ser Ile His Ser Ser
 50 55 60
 Trp Arg Ile Thr Leu Ile Ser Glu Pro Asn Lys Cys Ser Pro Val Leu
 65 70 75 80
 Asn Arg Cys Arg Lys Arg Phe Pro Arg Thr Ser Leu Ile Phe Ser
 85 90 95

<210> 9
 <211> 4695
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 9
 cccgggctgg gctgagagccc gcagaggaag acgctctagg gatttgtccc ggactagcga 60
 gatggcaagg ctgaggacgg gaggtgatt gagaggcgaa ggtacacct aatctcaata 120
 caacctttgg agctaagcca gcaatgtag agggagatt ctgcacgtcc cttccaggcg 180
 gcctccccgt caccaccccc cccaacccgc cccgaccgga gctgagagta attcatacaa 240
 aaggactcgc ccctgccttg gggaatccca gggaccgtcg ttaaaactccc actaacgtag 300
 aacccagaga tcgctgcgtt cccgccccct caccgccccg ctctcgtcat caetgaggtg 360
 gagaagagca tgcgtgaggc tccggtgccc gtcagtgggc agagcgacaca tcgcccacag 420
 tccccgagaa gttgggggga ggggtcggca attgaaccgg tgcctagaga aggtggcgcg 480
 gggtaaactg ggaaagtgat gtcgtgtact ggctccgcct ttttcccgag ggtgggggag 540

| | | | | | | | |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| | aaccgtatat | aagtgcagta | gtcgccgtga | acgttctttt | tcgcaacggg | tttgccgcca | 600 |
| | gaacacaggt | aagtgcagtg | tggtggtccc | gcgggcctgg | cctctttacg | ggttatggcc | 660 |
| 5 | cttgcggtgc | ttgaattact | ttccagcccc | tggtgcagtg | acgtgattct | tgatccccag | 720 |
| | cttcgggttg | gaagtgggtg | ggagagttcg | aggccttgcg | cttaaggagc | cccttcgcct | 780 |
| | cgtgcttgag | ttgaggcctg | gcctggggcg | tgggggccgc | gcgtgcgaat | ctgggtggcac | 840 |
| | cttcgcgcct | gtctcgctgc | tttcgataag | tctctagcca | tttaaaattt | ttgatgacct | 900 |
| | gctgcgacgc | tttttttctg | gcaagatagt | cttgtaaattg | cgggccaaga | ctgcacact | 960 |
| | ggattttcgg | tttttggggc | cgcgggcggc | gacggggccc | gtgcgtccca | gcgcacatgt | 1020 |
| | tcggcgaggc | ggggccttgc | agcgcggcca | ccgagaaatc | gacgggggta | gtctcaagct | 1080 |
| 10 | ggcgggcctg | ctctgggtgc | tggtcctcgc | ccgccgtgta | tcgccccgcc | ctggggcgga | 1140 |
| | aggctggccc | ggtcggcacc | agttgcgtga | gcggaaagat | ggcgcttccc | cggccttgc | 1200 |
| | gcaggggagc | caaaatggag | gacgcggcgc | tcgggagagc | gggcgggtga | gtcaccacca | 1260 |
| | caaaaggaaa | gggcctttcc | gtcctcagcc | gtcgtctcat | gtgactccac | ggagtaccgg | 1320 |
| | gcgccgtcca | ggcaccctcg | ttagttctcg | agcttttgga | gtacgtcgtc | tttaggttgg | 1380 |
| | ggggaggggg | tttatgcgat | ggagtttccc | cacactgagt | gggtggagac | tgaagttagg | 1440 |
| | ccagcttggc | acttgatgta | attctccttg | gaatttgccc | tttttgagtt | ttgatcttgg | 1500 |
| 15 | ttcattctca | agcctcagac | agtgggtcaa | agtttttttc | ttccatttca | gggtgcgtga | 1560 |
| | aaactacccc | taaaagccaa | aatgggaaag | gaaaagactc | atatcaacat | tgctcgtcatt | 1620 |
| | gtcacacgtg | attcgggcaa | gtccaccact | actggccatc | tgatctataa | atgcgggtggc | 1680 |
| | atcgacaaaa | gaaccattga | aaaatttgag | aaggaggctg | ctgagggtatg | tttaatacca | 1740 |
| | gaaaggggaa | gatcaactaa | aatgagtttt | accagcagaa | tcattaggtg | atttccccag | 1800 |
| | aactagttag | tggttttagat | ctgaattgcta | atagtttaaga | ccttacttat | gaaataaatt | 1860 |
| 20 | tgcttttggg | gacttctgta | atcgtattgc | tagtgagtag | atttggatgt | taatagttaa | 1920 |
| | gtactctact | ataaaagtgt | gatttttggg | tgcttctgta | acccaaagt | acccaaatca | 1980 |
| | ctttggactt | ggagtgtgaa | agtggaaact | gccaattaa | ggctggggac | aaggaaattg | 2040 |
| | aagctggagt | ttgtgtttta | gtaaccaagt | aacgactctt | aatccttaca | gatgggaaag | 2100 |
| | ggctccttca | agtatgcctg | ggctcttggg | aaactgaaag | ctgagcgtga | acgtggatatc | 2160 |
| | accattgata | tctccttggt | gaaatttgag | accagcaagt | actatgtgac | tatcattgat | 2220 |
| | gccccaggac | acagagactt | tatcaaaaac | atgattacag | ggacatctca | gggttgggatt | 2280 |
| 25 | aataattcta | ggtttcttta | tctccttctt | cttgctttgt | acactgggtt | tgctatttgg | 2340 |
| | agagttgaca | gggatatgtc | tttgctttct | ttaaaggctg | actgtgctgt | cctgatgtgt | 2400 |
| | gctgctgggt | ttggtgaatt | tgaagctggg | atctccaaga | atgggcagac | ccgagagcat | 2460 |
| | gcccccttgg | cttacacact | gggtgtgaaa | caactaaattg | tcgggtgttaa | caaaatggat | 2520 |
| | tcacatgagc | caccctacag | ccagaaagaga | tatgaggaaa | ttgttaagga | agtcagcact | 2580 |
| | tacattaaga | aaattggcta | caacccccgac | acagtagcat | ttgtgccaat | ttctggttgg | 2640 |
| 30 | aatgggtgaca | acatgctgga | gccaagtgtc | aacgtaagt | gctttcaaga | ccattgttaa | 2700 |
| | aaagctctgg | gaatggcgat | ttcacttcta | cacaaattgg | catgcttgtg | tttcagatgc | 2760 |
| | cttgggtcaa | gggatggaaa | gtcaccctga | aggatggcaa | tgccagtgga | accacgctgc | 2820 |
| | ttgagcctct | ggactgcatc | ctaccacca | ctcgtccaac | tgacaagccc | ttgcgctgc | 2880 |
| | ctctccagga | tgtctacaaa | attgggtgta | agttggctgt | aaacaaagt | gaattttgag | 2940 |
| | tgatagagta | ctgtctgcct | tcataggtat | ttagttatgt | gtaaatattt | ttaggtattg | 3000 |
| | gtactgttcc | tggttggcga | gtggagactg | gtgttctcaa | acccgggtatg | gtgggtcacct | 3060 |
| 35 | ttgctccagt | caacgtttaca | acggaaagtaa | aatctgtcga | aatgcacat | gaagctttga | 3120 |
| | gtgaagctct | tcctggggac | aatgtgggct | tcaatgtcaa | gaatgtgtct | gtcaaggatg | 3180 |
| | ttcgtctgtg | caacgttgct | ggtagacagca | aaaatgaccc | accaatggaa | gcagctggct | 3240 |
| | tcactgtcca | ggtaacaatt | taaagtaaca | ttacttatt | gcagaggcta | aagtcatttg | 3300 |
| | agactttgga | tttgcaactga | atgcacaatct | ttttccaag | gtgattatcc | tgaaccatcc | 3360 |
| | aggccaaata | agcgccggct | atgcccctgt | attggattgc | cacacggctc | acattgcatg | 3420 |
| 40 | caagtttgct | gagctgaagg | aaaagattga | tcgcccgtct | ggtaaaaagc | tgggaagtgg | 3480 |
| | ccctaataatc | ttgaagtctg | gtgatgctgc | cattgttgat | atggttcctg | gcaagcccat | 3540 |
| | gtgtgttgag | agcttctcag | actatccacc | tttgggtaag | gatgactact | taaatgtaaa | 3600 |
| | aaagtttgt | taaagatgaa | aaatacaact | gaacagtact | ttgggtaata | attaactttt | 3660 |
| | tttttaata | gtcgctttgc | tgtcgtgat | atgagacaga | cagttgcggg | gggtgtcatc | 3720 |
| | aaagcagtg | acaagaaggc | tgctggagct | ggcaaggctca | ccaagtctgc | ccagaaagct | 3780 |
| | cagaaggcta | aatgaatatt | atccctaata | cctgccaccc | cactcttaat | cagtggtgga | 3840 |
| 45 | agaacggtct | cagaactgtt | tgtttcaatt | ggccatttaa | gtttagtagt | aaaagactgg | 3900 |
| | ttaatgataa | caatgcacgc | taaaaaccttc | agaaggaaaag | gagaattgtt | tgtggaccac | 3960 |
| | tttgggtttc | ttttttgcgt | gtggcagttt | taagtattta | gtttttaaaa | tcagtacttt | 4020 |
| | ttaatggaaa | caacttgacc | aaaaatttgt | cacagaattt | tgagaccat | taaaaaagtt | 4080 |
| | aaatgagaaa | cctgtgtgtt | cctttgggtca | acaccgagac | atttaggtga | aagacatcta | 4140 |
| | attctgggtt | tacgaatctg | gaaacttctt | gaaaatgtaa | ttcttgagtt | aacacttctg | 4200 |
| 50 | gggtggagaat | aggggtgttt | tccccccaca | taattgggaag | gggaagggaat | atcattttaaa | 4260 |
| | gctatgggag | ggtttctttg | attacaacac | tgagagagaaa | tgacagcatgt | tgctgattgc | 4320 |
| | ctgtcactaa | aacaggccaa | aaactgagtc | cttgggttgc | atagaaagct | tcattgttgc | 4380 |

5 aaaccaatgt taagtgaatc tttggaaaca aaatgtttcc aaattactgg gatgtgcatg 4440
 ttgaaacgtg gggttaaaatg actgggagcagt gaaagttgac tatttgccat gacataagaa 4500
 ataatgttag tggctagtgt acaccctatg agtgggaaggg tccattttga agtcagtggg 4560
 gtaagctttta tgccattttg atggtttcac aagttctatt gagtgctatt cagaatagga 4620
 acaaggttct aatagaaaaa gatggcaatt tgaagtagct ataaaattag actaattaca 4680
 ttgcttttct ccgac 4695

10 <210> 10
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Elongationsfaktor EF-1-alpha

15 <400> 10
 Met Gly Lys Glu Lys Thr His Ile Asn Ile Val Val Ile Gly His Val
 1 5 10 15
 Asp Ser Gly Lys Ser Thr Thr Thr Gly His Leu Ile Tyr Lys Cys Gly
 20 20 25 30
 Gly Ile Asp Lys Arg Thr Ile Glu Lys Phe Glu Lys Glu Ala Ala Glu
 35 40 45
 Met Gly Lys Gly Ser Phe Lys Tyr Ala Trp Val Leu Asp Lys Leu Lys
 50 55 60
 Ala Glu Arg Glu Arg Gly Ile Thr Ile Asp Ile Ser Leu Trp Lys Phe
 65 70 75 80
 Glu Thr Ser Lys Tyr Tyr Val Thr Ile Ile Asp Ala Pro Gly His Arg
 85 90 95
 25 Asp Phe Ile Lys Asn Met Ile Thr Gly Thr Ser Gln Ala Asp Cys Ala
 100 105 110
 Val Leu Ile Val Ala Ala Gly Val Gly Glu Phe Glu Ala Gly Ile Ser
 115 120 125
 Lys Asn Gly Gln Thr Arg Glu His Ala Leu Leu Ala Tyr Thr Leu Gly
 130 135 140
 30 Val Lys Gln Leu Ile Val Gly Val Asn Lys Met Asp Ser Thr Glu Pro
 145 150 155 160
 Pro Tyr Ser Gln Lys Arg Tyr Glu Glu Ile Val Lys Glu Val Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ile Lys Lys Ile Gly Tyr Asn Pro Asp Thr Val Ala Phe Val Pro
 180 185 190
 35 Ile Ser Gly Trp Asn Gly Asp Asn Met Leu Glu Pro Ser Ala Asn Met
 195 200 205
 Pro Trp Phe Lys Gly Trp Lys Val Thr Arg Lys Asp Gly Asn Ala Ser
 210 215 220
 Gly Thr Thr Leu Leu Glu Ala Leu Asp Cys Ile Leu Pro Pro Thr Arg
 225 230 235 240
 40 Pro Thr Asp Lys Pro Leu Arg Leu Pro Leu Gln Asp Val Tyr Lys Ile
 245 250 255
 Gly Gly Ile Gly Thr Val Pro Val Gly Arg Val Glu Thr Gly Val Leu
 260 265 270
 Lys Pro Gly Met Val Val Thr Phe Ala Pro Val Asn Val Thr Thr Glu
 275 280 285
 45 Val Lys Ser Val Glu Met His His Glu Ala Leu Ser Glu Ala Leu Pro
 290 295 300
 Gly Asp Asn Val Gly Phe Asn Val Lys Asn Val Ser Val Lys Asp Val
 305 310 315 320
 Arg Arg Gly Asn Val Ala Gly Asp Ser Lys Asn Asp Pro Pro Met Glu
 325 330 335
 50 Ala Ala Gly Phe Thr Ala Gln Val Ile Ile Leu Asn His Pro Gly Gln
 340 345 350
 Ile Ser Ala Gly Tyr Ala Pro Val Leu Asp Cys His Thr Ala His Ile
 355 360 365

55

Ala Cys Lys Phe Ala Glu Leu Lys Glu Lys Ile Asp Arg Arg Ser Gly
 370 375 380
 Lys Lys Leu Glu Asp Gly Pro Lys Phe Leu Lys Ser Gly Asp Ala Ala
 385 390 395 400
 5 Ile Val Asp Met Val Pro Gly Lys Pro Met Cys Val Glu Ser Phe Ser
 405 410 415
 Asp Tyr Pro Pro Leu Gly Arg Phe Ala Val Arg Asp Met Arg Gln Thr
 420 425 430
 Val Ala Val Gly Val Ile Lys Ala Val Asp Lys Lys Ala Ala Gly Ala
 435 440 445
 10 Gly Lys Val Thr Lys Ser Ala Gln Lys Ala Gln Lys Ala Lys
 450 455 460

<210> 11
 <211> 8332
 15 <212> DNA
 <213> Moloney murine leukemia virus

<400> 11
 tatgcgcctg cgtcgggtact agtttagctaa ctagctctgt atctggcgga cccgtgggtgg 60
 aactgacgag ttccggaacac ccggccgcaa ccttgggaga cgtcccaggg acttcgggggg 120
 20 ccgttttttgt ggcccgcacct gaggccaaaa atccccgatcg ttttggactc tttgggtgcac 180
 cccctcttaga ggagggatata gtggttcttg taggagacga gaacctaaaa cagttcccgc 240
 ctccgtctga atttttgctt tcgggtttggg accgaagccg cgcgcgcgct ctgtctgtct 300
 gcagcatcgt tctgtgttgt ctctgtctga ctgtgtttct gtatttgtct gagaatatgg 360
 gccagactgt taccactccc ttaagtttga ccttaggtca ctggaaagat gtcgagcgga 420
 tcgctcacaac ccagtcggta gatgtcaaga agagacgttg ggttaccttc tgctctgcag 480
 25 aatggccaac cttaacgtc ggatggccgc gagacggcac cttaaccga gacctatca 540
 cccaggttaa gatcaaggte ttttcacctg gcccgcatgg acaccagac caggtcccc 600
 acatcgtgac ctgggaagcc ttggcttttg acccccctcc ctgggtcaag cctttgtac 660
 accctaagcc tccgcctcct ctctctccat ccgccccgtc tctccccctt gaacctctc 720
 gttcgacccc gccctgatcc tccctttatc cagccctcac tccttctcta ggcgccaaac 780
 ctaaacctca agttctttct gacagtgggg ggccgctcat cgacctactt acagaagacc 840
 ccccgctta tagggaccca agaccacccc ctctccgacag ggacggaaat ggtggagaag 900
 30 cgacccttgc gggagaggca ccggaccctt ccccaatggc atctcgctta cgtgggagag 960
 gggagccccc tgtggccgac tccactacct cgcaggcatt ccccctccgc caggaggaa 1020
 acggacagct tcaatactgg ccgttctcct ctctgacct ttacaactgg aaaaaataa 1080
 acccttcttt ttctgaagat ccaggtaaac tgacagctct gatcgagtct gttctcatca 1140
 cccatcagcc cacctgggac gactgtcagc agctgttggg gactctgctg accggagaag 1200
 aaaaacaacg ggtgtcttta gaggctagaa aggcgggtgc gggcgatgat gggcgcccca 1260
 35 ctcaactgcc caatgaagtc gatgccctt tccccctcga gcgcccagac tgggattaca 1320
 ccacccaggg aggtaggaac cacctagtcc actatcgcca gttgtctcta cgggtctctc 1380
 aaaaacgggg cagaagcccc accaatttgg ccaaggtaaa aggaataaca caaggcccca 1440
 atgagtctcc ctccgcttcc ctagagagac ttaagggaag ctatcgagg tacactcctt 1500
 atgaccctga ggaccaggg caagaaacta atgtgtctat gtctttcatt tggcagtctg 1560
 cccagacat tgggagaaag ttagagagg tagaagattt aaaaaacaag acgcttgagg 1620
 40 atttggttag agaggcagaa aagatcttta ataaacgaga aaccccgaa gaaagagagg 1680
 aacgtatcag gagagaaaca gaggaaaaag aagaacgcc taggacagag gatgagcaga 1740
 aagagaaaga aagagatcgt aggagacata gagagatgag caagctattg gccactgtcg 1800
 ttagtggaca gaaacaggat agacaggag gagaacgaag gaggtcccaa ctcgatcgcg 1860
 accagtgtgc ctactgcaaa gaaaaggggc actgggctaa agattgtccc aagaaaccac 1920
 gaggacctcg gggaccaaga cccagacct cctccttgac cctagatgac tagggaggtc 1980
 aggggtcagga gcccccctt gaacccagga taacctcaa agtcgggggg caaccgtca 2040
 45 ccttcctggg agatactggg gcccaact ccgtgctgac ccaaaatcct ggacctta 2100
 gtgataagtc tgcctgggtc caaggggcta ctggaggaaa gcggtatcgc tggaccacgg 2160
 atcgaaaagt acatctagct accggttaagg tcaccactc tttcctccat gtaccagact 2220
 gtccctatcc tctgttagga agagatttgc tgactaaact aaaagcccaa atccactttg 2280
 agggatcagg agctcaggtt atgggaccaa tggggcagcc cctgcaagtg ttgacctaa 2340
 atatagaaga tgagatcgg ctacatgaga cctcaaaaga gccagatgtt tctctagggt 2400
 50 ccacatggct gtctgatttt cctcaggcct gggcggaac cgggggcatg ggactggcag 2460
 ttcgccaagc tcctctgac ataccttga aagcaacctc taccctcgtg tccataaac 2520
 aatacccat gtcacaagaa gccagactgg ggatcaagcc ccacatacag agactgttgg 2580
 accagggaat actggtaccc tgccagtccc cctggaacac gcccctgcta cccgttaaga 2640

55

5 aaccagggac taatgattat aggcctgtcc aggatctgag agaagtcaac aagcgggtgg 2700
 aagacatcca cccaccgtg cccaaccctt acaacctctt gagcgggctc ccaccgtccc 2760
 accagtggta cactgtgctt gatttaaagg atgccttttt ctgcctgaga ctccacccca 2820
 ccagtcagcc tctcttcgcc tttgagtggg gagatccaga gatgggaatc tcaggacaat 2880
 tgacctggac cagactccca cagggtttca aaaacagtcc caccctgttt gatgaggcac 2940
 tgcacagaga cctagcagac ttccggatcc agcaccaga cttgatcctg ctacagtacy 3000
 tggatgactt actgctggcc gccacttctg agctagactg ccaacaagggt actcggggcc 3060
 tgttacaaac cctaggggaa ctcgggtatc gggcctcggc caagaaagcc caaatttgcc 3120
 agaaaacaggt caagtatctg gggatctctt taaaagaggg tcagagatgg ctgactgagg 3180
 10 ccagaaaaga gactgtgatg gggcagccta ctccgaagac ccctcgacaa ataggggagg 3240
 tcctagggac ggcaaggctt tgtcgctctt ggatccctgg gtttgcagaa atggcagccc 3300
 ccttgtatccc tctcaccaaa acggggactc tgtttaattg gggcccgagc caacaaaagg 3360
 cctatcaaga aatcaagcaa gctcttctaa ctgccccagc cctgggggtg ccagatttga 3420
 ctaagccctt tgaactcttt gtcgacgaga agcagggtta cgccaaagggt gtcctaagcg 3480
 aaaaactggg accttggcgt cgccgggtgg cctacctgtc caaaaagcta gacccagtag 3540
 cagctgggtg gcccccctgc ctacggatgg tagcagccat tgccgtactg acaaaaggatg 3600
 15 caggcaagct aaccatggga cagccactag tcattctggc ccccatgca gtagaggcac 3660
 tagtcaaaac acccccgcac cgctggcttt ccaacgcccg agccctgaac cgggctacgc 3720
 tgcttttggg cacggaccgg gtccagttcg gaccgggtgg agccctgaac cgggctacgc 3780
 tgctccctact gcctgaggaa gggctgcaac acaactgcct tgatatcctg gccgaagccc 3840
 acggaacccg acccgaccta acggaccagc cgctcccaga cgccgaccac acctgggtaca 3900
 cggaatggag cagtctctta caagaggggc agcgtaaggc gggagctgcg gtgaccaccg 3960
 20 agaccgaggt aatctgggct aaagccctgc cagccgggac atccgctcag cgggctgaac 4020
 tgatagcact caccagggcc cttaaagatg cagaaggtaa gaagctaat gtttatactg 4080
 atagccgta tgcttttggc actgcccata tccatggaga aatatacaga aggcgtgggt 4140
 tgctcacatc agaaggcaaa gagatcaaaa ataaagacga gatcttggcc ctactaaaag 4200
 ccctcttctt gcccaaaaaga cttagcataa tccattgtcc aggacatcaa aagggaacaca 4260
 gcgcccaggc tagaggcaac cggatggctg acaagcggc cgaaaaggca gccatcacag 4320
 25 agactccaga cacctctacc ctccctatag aaaattcatc accctacacc tcagaacatt 4380
 ttcatcacac agtgactgat ataaaggacc taaccaagtt gggggccatt tatgataaaa 4440
 caaagaagta ttgggtctac caaggaaaaa ctgtgatgcc tgaccagttt acctttgaat 4500
 tattagactt tcttcatcag ctgactcacc tcagcttctc aaaaatgaag gctctcttag 4560
 agagaagcca cagtccctac tacatgctga accgggatcg aacactcaaa aatatcactg 4620
 agacctgcaa agcttgtgca caagtcaacg ccagcaagtc tgccgttaaa cagggaacta 4680
 30 gggctccgcg gcctcggccc ggcaactcatt gggagatcga tttaccgag ataaagccc 4740
 gattgtatgg ctataaatat cttctagttt ttatagatac ctttctggc tggatagaag 4800
 ccttcccaac caagaaagaa accgccaagg tcgtaaccaa gaagctacta gaggagatct 4860
 tccccaggtt cgcatgacct cttctgttgg ggattgattg gaaattacat tgcgcataca 4920
 aggtgagtca gacagtggcc ctcaggccag gtgaaagaa tgaatagaac catcaaggag actttaacta 5040
 gaccccaaaag tgcaactggc tctagagact ggggtgtcct actccctta gccctgtacc 5100
 35 gagcccgcaa cagcgcgggc ccccatggcc tcaccccata tgagatctta tatggggcac 5160
 ccccgcccct tgtaaaactt cctgaccttc acatgacaag agttactaac agccctctc 5220
 tccaagctca cttacaggct ctctacttag tccagcacga agtctggaga cctctggcgg 5280
 cagcctacca agaacaactg gaccgaccgg tggtacctca cccttaccga gtcggcgaca 5340
 cagtgtgggt cgccgacac cagactaaga acctagaacc tcgctggaaa ggaccttaca 5400
 cagtcctgct gaccaccccc accgcccctc aagtagacgg catcgagct tggatcacag 5460
 40 ccgcccacgt gaaggctgcc gaccccgggg gtggaccatc ctctagactg acatggcgcg 5520
 ttcaacgctc tcaaaacccc ttaaaaataa gggttaaccc cgaggccccc taatccccct 5580
 aatttcttct atgctcagag gggtcagtag tgcttcggcc ggctccagtc ctcatcaagt 5640
 ctataatata acctgggagg taaccaatgg agatcgggag acgggtatgg caacttctgg 5700
 caaccacccc ctgtggacct ggtggcctga ccttacccca gatttatgta tgttagccca 5760
 ccatggacca tcttatttgg ggcagaata tcaatcccc ttttcttct ccccggggcc 5820
 45 cccttgttgc tcagggggca gcagcccagg ctgttccaga gactgcgaag aacctttaac 5880
 ctccctcacc cctcgggtga acactgcctg gaacagactc aagctagacc agacaactca 5940
 taaatcaaat gagggatttt atgtttgccc cgggccccac cgccccgag aatccaagtc 6000
 atgtgggggt ccagactcct tctactgtgc ctattggggc tgtgagacaa ccggtagagc 6060
 ttactgggag cctcctcat catgggattt catcacagta aacaacaatc tcacctctga 6120
 ccaggctgtc caggatgca aagataataa gtggtgcaac cccttagtta ttcggtttac 6180
 50 agacggggg agacgggtta cttcctggac cacaggacat tactggggct tacgtttgta 6240
 tgtctccgga caagatccag ggcttaccat tgggatccga ctcagatacc aaaatctagg 6300
 acccccgctc ccaatagggc caaaccctgt tctggcagac caacagccac tctccaagcc 6360
 caaacctgtt aagtcgcctt cagtcaccaa accaccaggt gggactcctc tctccctac 6420
 ccaacttcca ccggcgggaa cggaaaatag gctgctaaac ttagtagacg gagcctacca 6480

```

5 agccctcaac ctcaccagtc ctgacaaaac ccaagagtgc tggttgtgtc tagtagcggg 6540
  acccccttac tacgaagggg ttgccgtcct gggtagctac tccaaccata cctctgctcc 6600
  agccaactgc tccgtggcct cccaacacaa gttgacctg tccgaagtga ccggacaggg 6660
  actctgcata ggagcagttc ccaaaacaca tcaggcccta tgtaatacca cccagacaag 6720
  cagtcgaggg tcctattatc tagttgcccc tacagggtacc atgtgggctt gtagtaccgg 6780
  gcttactcca tgcatctcca ccaccatact gaaccttacc actgattatt gtgttcttgt 6840
  cgaactctgg ccaagagtca cctatcattc ccccagctat gtttacggcc tgtttgagag 6900
  atccaaccga cacaaaagag aaccgggtgtc gttaaccctg gccctattat tgggtggact 6960
  aacctggggg ggaattgccg ctgggaatagg aacaggggact actgctctaa tggccactca 7020
  gcaattccag cagctccaag ccgcagtaca ggatgatctc agggagggtt gggccactca 7080
  ctctaacccta gaaaagtctc tcacttccct gctgaagtt gtcctacaga atcgaagggg 7140
  cctagacttg ttatttctaa aagaaggagg gctgtgtgct gctctaaaag aagaatgttg 7200
  cttctatgcg gaccacacag gactagttag agacagcatg gccaaattga gagagaggct 7260
  taatcagaga cagaaactgt ttgagtcaac tcaaggatgg tttaggggac tgtttaacag 7320
  atccccctgg ttaccacct tgatatctac cattatggga cccctcattg tactccta 7380
  gattttgctc ttcggaccct gcattcttaa tcgattagtc caatttgta aagacaggat 7440
  atcagtggtc caggctctag ttttgactca acaatatcac cagctgaagc ctatagagta 7500
  cgagccatag ataaaaataa agattttatt tagtctccag aaaaaggggg gaatgaaaga 7560
  cccacactgt aggtttggca agctagctta agtaacgcca ttttgcaagg catggaaaaa 7620
  tacataactg agaatagaga agttcagatc aagggtcagga acagatggaa cagctgaata 7680
  tgggccaaac aggatacttg tggttaagcag ttccctgcccc ggctcagggc caagaacaga 7740
  tgggaacagct gaatatgggc caaacaggat atctgtggta agcagttcct gccccggctc 7800
  agggccaaga acagatggtc cccagatgcg gtccagccct cagcagtttc tagagaacca 7860
  tcagatgttt ccagggtgcc ccaaggacct gaaatgaccc tgtgccttat ttgaactaac 7920
  caatcagttc gcttctcgct tctgttcgcg cgcttctgct ccccgagctc aataaaaagag 7980
  cccacaaccc ctcactcggg gcgccagtc tccgattgac tgagtcgccc gggtagccgt 8040
  gtatccaata aaccctcttg cagttgcagc gccagtcctc cgattgactg agtcgcccgg 8100
  gtacccgtgt atccaataaa cctctttgca gttgcatccg acttgtggtc tcgctgttcc 8160
  ttggggagggt ctctctgtag tgattgacta cccgtcagcg ggggtctttc atttgggggc 8220
  tcgtccggga tcgggagacc cctgccagg gaccaccgac ccaccaccgg gaggtaagct 8280
  ggccagcaac ttatctgtgt ctgtccgatt gtctagtgtc tatgactgat tt 8332

```

```

<210> 12
<211> 538
<212> PRT
30 <213> Moloney murine leukemia virus

```

```

<220>
<223> gag-Protein

```

```

35 <400> 12
  Met Gly Gln Thr Val Thr Thr Pro Leu Ser Leu Thr Leu Gly His Trp
    1           5           10           15
  Lys Asp Val Glu Arg Ile Ala His Asn Gln Ser Val Asp Val Lys Lys
    20           25           30           35
  Arg Arg Trp Val Thr Phe Cys Ser Ala Glu Trp Pro Thr Phe Asn Val
    40           45           50           55
  Gly Trp Pro Arg Asp Gly Thr Phe Asn Arg Asp Leu Ile Thr Gln Val
    60           65           70           75
  Lys Ile Lys Val Phe Ser Pro Gly Pro His Gly His Pro Asp Gln Val
    80           85           90           95
  Pro Tyr Ile Val Thr Trp Glu Ala Leu Ala Phe Asp Pro Pro Pro Trp
    100          105          110          115
  Val Lys Pro Phe Val His Pro Lys Pro Pro Pro Pro Leu Pro Pro Ser
    120          125          130          135
  Ala Pro Ser Leu Pro Leu Glu Pro Pro Arg Ser Thr Pro Pro Arg Ser
    140          145          150          155
  Ser Leu Tyr Pro Ala Leu Thr Pro Ser Leu Gly Ala Lys Pro Lys Pro
    160          165          170          175
  Gln Val Leu Ser Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile Asp Leu Leu Thr Glu
    180          185          190          195
  Asp Pro Pro Pro Tyr Arg Asp Pro Arg Pro Pro Pro Ser Asp Arg Asp
    200          205          210          215

```

55

Gly Asn Gly Gly Glu Ala Thr Pro Ala Gly Glu Ala Pro Asp Pro Ser
 180 185 190
 Pro Met Ala Ser Arg Leu Arg Gly Arg Arg Glu Pro Pro Val Ala Asp
 195 200 205
 Ser Thr Thr Ser Gln Ala Phe Pro Leu Arg Ala Gly Gly Asn Gly Gln
 210 215 220
 Leu Gln Tyr Trp Pro Phe Ser Ser Ser Asp Leu Tyr Asn Trp Lys Asn
 225 230 235
 Asn Asn Pro Ser Phe Ser Glu Asp Pro Gly Lys Leu Thr Ala Leu Ile
 245 250 255
 Glu Ser Val Leu Ile Thr His Gln Pro Thr Trp Asp Asp Cys Gln Gln
 260 265 270
 Leu Leu Gly Thr Leu Leu Thr Gly Glu Glu Lys Gln Arg Val Leu Leu
 275 280 285
 Glu Ala Arg Lys Ala Val Arg Gly Asp Asp Gly Arg Pro Thr Gln Leu
 290 295 300
 Pro Asn Glu Val Asp Ala Ala Phe Pro Leu Glu Arg Pro Asp Trp Asp
 305 310 315 320
 Tyr Thr Thr Gln Ala Gly Arg Asn His Leu Val His Tyr Arg Gln Leu
 325 330 335
 Leu Leu Ala Gly Leu Gln Asn Ala Gly Arg Ser Pro Thr Asn Leu Ala
 340 345 350
 Lys Val Lys Gly Ile Thr Gln Gly Pro Asn Glu Ser Pro Ser Ala Phe
 355 360 365
 Leu Glu Arg Leu Lys Glu Ala Tyr Arg Arg Tyr Thr Pro Tyr Asp Pro
 370 375 380
 Glu Asp Pro Gly Gln Glu Thr Asn Val Ser Met Ser Phe Ile Trp Gln
 385 390 395 400
 Ser Ala Pro Asp Ile Gly Arg Lys Leu Glu Arg Leu Glu Asp Leu Lys
 405 410 415
 Asn Lys Thr Leu Gly Asp Leu Val Arg Glu Ala Glu Lys Ile Phe Asn
 420 425 430
 Lys Arg Glu Thr Pro Glu Glu Arg Glu Glu Arg Ile Arg Arg Glu Thr
 435 440 445
 Glu Glu Lys Glu Glu Arg Arg Arg Thr Glu Asp Glu Gln Lys Glu Lys
 450 455 460
 Glu Arg Asp Arg Arg Arg His Arg Glu Met Ser Lys Leu Leu Ala Thr
 465 470 475 480
 Val Val Ser Gly Gln Lys Gln Asp Arg Gln Gly Gly Glu Arg Arg Arg
 485 490 495
 Ser Gln Leu Asp Arg Asp Gln Cys Ala Tyr Cys Lys Glu Lys Gly His
 500 505 510
 Trp Ala Lys Asp Cys Pro Lys Lys Pro Arg Gly Pro Arg Gly Pro Arg
 515 520 525
 Pro Gln Thr Ser Leu Leu Thr Leu Asp Asp
 530 535

40
 <210> 13
 <211> 1737
 <212> PRT
 <213> Moloney murine leukemia virus

45
 <220>
 <223> gag-pol-Protein

50
 <400> 13
 Met Gly Gln Thr Val Thr Thr Pro Leu Ser Leu Thr Leu Gly His Trp
 1 5 10 15
 Lys Asp Val Glu Arg Ile Ala His Asn Gln Ser Val Asp Val Lys Lys
 20 25 30
 Arg Arg Trp Val Thr Phe Cys Ser Ala Glu Trp Pro Thr Phe Asn Val
 35 40 45

55

Gly Trp Pro Arg Asp Gly Thr Phe Asn Arg Asp Leu Ile Thr Gln Val
 50 55 60
 Lys Ile Lys Val Phe Ser Pro Gly Pro His Gly His Pro Asp Gln Val
 65 70 75 80
 Pro Tyr Ile Val Thr Trp Glu Ala Leu Ala Phe Asp Pro Pro Pro Trp
 85 90 95
 Val Lys Pro Phe Val His Pro Lys Pro Pro Pro Pro Leu Pro Pro Ser
 100 105 110
 Ala Pro Ser Leu Pro Leu Glu Pro Pro Arg Ser Thr Pro Pro Arg Ser
 115 120 125
 Ser Leu Tyr Pro Ala Leu Thr Pro Ser Leu Gly Ala Lys Pro Lys Pro
 130 135 140
 Gln Val Leu Ser Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile Asp Leu Leu Thr Glu
 145 150 155 160
 Asp Pro Pro Pro Tyr Arg Asp Pro Arg Pro Pro Ser Asp Arg Asp
 165 170 175
 Gly Asn Gly Gly Glu Ala Thr Pro Ala Gly Glu Ala Pro Asp Pro Ser
 180 185 190
 Pro Met Ala Ser Arg Leu Arg Gly Arg Arg Glu Pro Pro Val Ala Asp
 195 200 205
 Ser Thr Thr Ser Gln Ala Phe Pro Leu Arg Ala Gly Asn Gly Gln
 210 215 220
 Leu Gln Tyr Trp Pro Phe Ser Ser Ser Asp Leu Tyr Asn Trp Lys Asn
 225 230 235 240
 Asn Asn Pro Ser Phe Ser Glu Asp Pro Gly Lys Leu Thr Ala Leu Ile
 245 250 255
 Glu Ser Val Leu Ile Thr His Gln Pro Thr Trp Asp Asp Cys Gln Gln
 260 265 270
 Leu Leu Gly Thr Leu Leu Thr Gly Glu Glu Lys Gln Arg Val Leu Leu
 275 280 285
 Glu Ala Arg Lys Ala Val Arg Gly Asp Asp Gly Arg Pro Thr Gln Leu
 290 295 300
 Pro Asn Glu Val Asp Ala Ala Phe Pro Leu Glu Arg Pro Asp Trp Asp
 305 310 315 320
 Tyr Thr Thr Gln Ala Gly Arg Asn His Leu Val His Tyr Arg Gln Leu
 325 330 335
 Leu Leu Ala Gly Leu Gln Asn Ala Gly Arg Ser Pro Thr Asn Leu Ala
 340 345 350
 Lys Val Lys Gly Ile Thr Gln Gly Pro Asn Glu Ser Pro Ser Ala Phe
 355 360 365
 Leu Glu Arg Leu Lys Glu Ala Tyr Arg Arg Tyr Thr Pro Tyr Asp Pro
 370 375 380
 Glu Asp Pro Gly Gln Glu Thr Asn Val Ser Met Ser Phe Ile Trp Gln
 385 390 395 400
 Ser Ala Pro Asp Ile Gly Arg Lys Leu Glu Arg Leu Glu Asp Leu Lys
 405 410 415
 Asn Lys Thr Leu Gly Asp Leu Val Arg Glu Ala Glu Lys Ile Phe Asn
 420 425 430
 Lys Arg Glu Thr Pro Glu Glu Arg Glu Glu Arg Ile Arg Arg Glu Thr
 435 440 445
 Glu Glu Lys Glu Glu Arg Arg Arg Thr Glu Asp Glu Gln Lys Glu Lys
 450 455 460
 Glu Arg Asp Arg Arg Arg His Arg Glu Met Ser Lys Leu Leu Ala Thr
 465 470 475 480
 Val Val Ser Gly Gln Lys Gln Asp Arg Gln Gly Gly Glu Arg Arg Arg
 485 490 495
 Ser Gln Leu Asp Arg Asp Gln Cys Ala Tyr Cys Lys Glu Lys Gly His
 500 505 510
 Trp Ala Lys Asp Cys Pro Lys Lys Pro Arg Gly Pro Arg Gly Pro Arg
 515 520 525
 Pro Gln Thr Ser Leu Leu Thr Leu Asp Asp Gly Gly Gln Gly Gln Glu
 530 535 540
 Pro Pro Pro Glu Pro Arg Ile Thr Leu Lys Val Gly Gly Gln Pro Val
 545 550 555 560

Thr Phe Leu Val Asp Thr Gly Ala Gln His Ser Val Leu Thr Gln Asn
 565 570 575
 Pro Gly Pro Leu Ser Asp Lys Ser Ala Trp Val Gln Gly Ala Thr Gly
 580 585 590
 Gly Lys Arg Tyr Arg Trp Thr Thr Asp Arg Lys Val His Leu Ala Thr
 595 600 605
 Gly Lys Val Thr His Ser Phe Leu His Val Pro Asp Cys Pro Tyr Pro
 610 615 620
 Leu Leu Gly Arg Asp Leu Leu Thr Lys Leu Lys Ala Gln Ile His Phe
 625 630 635 640
 Glu Gly Ser Gly Ala Gln Val Met Gly Pro Met Gly Gln Pro Leu Gln
 645 650 655
 Val Leu Thr Leu Asn Ile Glu Asp Glu His Arg Leu His Glu Thr Ser
 660 665 670
 Lys Glu Pro Asp Val Ser Leu Gly Ser Thr Trp Leu Ser Asp Phe Pro
 675 680 685
 Gln Ala Trp Ala Glu Thr Gly Gly Met Gly Leu Ala Val Arg Gln Ala
 690 695 700
 Pro Leu Ile Ile Pro Leu Lys Ala Thr Ser Thr Pro Val Ser Ile Lys
 705 710 715 720
 Gln Tyr Pro Met Ser Gln Glu Ala Arg Leu Gly Ile Lys Pro His Ile
 725 730 735
 Gln Arg Leu Leu Asp Gln Gly Ile Leu Val Pro Cys Gln Ser Pro Trp
 740 745 750
 Asn Thr Pro Leu Leu Pro Val Lys Lys Pro Gly Thr Asn Asp Tyr Arg
 755 760 765
 Pro Val Gln Asp Leu Arg Glu Val Asn Lys Arg Val Glu Asp Ile His
 770 775 780
 Pro Thr Val Pro Asn Pro Tyr Asn Leu Leu Ser Gly Leu Pro Pro Ser
 785 790 795 800
 His Gln Trp Tyr Thr Val Leu Asp Leu Lys Asp Ala Phe Phe Cys Leu
 805 810 815
 Arg Leu His Pro Thr Ser Gln Pro Leu Phe Ala Phe Glu Trp Arg Asp
 820 825 830
 Pro Glu Met Gly Ile Ser Gly Gln Leu Thr Trp Thr Arg Leu Pro Gln
 835 840 845
 Gly Phe Lys Asn Ser Pro Thr Leu Phe Asp Glu Ala Leu His Arg Asp
 850 855 860
 Leu Ala Asp Phe Arg Ile Gln His Pro Asp Leu Ile Leu Leu Gln Tyr
 865 870 875 880
 Val Asp Asp Leu Leu Ala Ala Thr Ser Glu Leu Asp Cys Gln Gln
 885 890 895
 Gly Thr Arg Ala Leu Leu Gln Thr Leu Gly Asn Leu Gly Tyr Arg Ala
 900 905 910
 Ser Ala Lys Lys Ala Gln Ile Cys Gln Lys Gln Val Lys Tyr Leu Gly
 915 920 925
 Tyr Leu Leu Lys Glu Gly Gln Arg Trp Leu Thr Glu Ala Arg Lys Glu
 930 935 940
 Thr Val Met Gly Gln Pro Thr Pro Lys Thr Pro Arg Gln Leu Arg Glu
 945 950 955 960
 Phe Leu Gly Thr Ala Gly Phe Cys Arg Leu Trp Ile Pro Gly Phe Ala
 965 970 975 980
 Glu Met Ala Ala Pro Leu Tyr Pro Leu Thr Lys Thr Gly Thr Leu Phe
 980 985 990
 Asn Trp Gly Pro Asp Gln Gln Lys Ala Tyr Gln Glu Ile Lys Gln Ala
 995 1000 1005
 Leu Leu Thr Ala Pro Ala Leu Gly Leu Pro Asp Leu Thr Lys Pro Phe
 1010 1015 1020
 Glu Leu Phe Val Asp Glu Lys Gln Gly Tyr Ala Lys Gly Val Leu Thr
 1025 1030 1035 1040
 Gln Lys Leu Gly Pro Trp Arg Arg Pro Val Ala Tyr Leu Ser Lys Lys
 1045 1050 1055
 Leu Asp Pro Val Ala Ala Gly Trp Pro Pro Cys Leu Arg Met Val Ala
 1060 1065 1070

Ala Ile Ala Val Leu Thr Lys Asp Ala Gly Lys Leu Thr Met Gly Gln
 1075 1080 1085
 5 Pro Leu Val Ile Leu Ala Pro His Ala Val Glu Ala Leu Val Lys Gln
 1090 1095 1100
 Pro Pro Asp Arg Trp Leu Ser Asn Ala Arg Met Thr His Tyr Gln Ala
 1105 1110 1115 1120
 Leu Leu Leu Asp Thr Asp Arg Val Gln Phe Gly Pro Val Val Ala Leu
 1125 1130 1135
 10 Asn Pro Ala Thr Leu Leu Pro Leu Pro Glu Glu Gly Leu Gln His Asn
 1140 1145 1150
 Cys Leu Asp Ile Leu Ala Glu Ala His Gly Thr Arg Pro Asp Leu Thr
 1155 1160 1165
 Asp Gln Pro Leu Pro Asp Ala Asp His Thr Trp Tyr Thr Asp Gly Ser
 1170 1175 1180
 Ser Leu Leu Gln Glu Gly Gln Arg Lys Ala Gly Ala Val Thr Thr
 1185 1190 1195 1200
 15 Glu Thr Glu Val Ile Trp Ala Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Ser Ala
 1205 1210 1215
 Gln Arg Ala Glu Leu Ile Ala Leu Thr Gln Ala Leu Lys Met Ala Glu
 1220 1225 1230
 Gly Lys Lys Leu Asn Val Tyr Thr Asp Ser Arg Tyr Ala Phe Ala Thr
 1235 1240 1245
 20 Ala His Ile His Gly Glu Ile Tyr Arg Arg Arg Gly Leu Leu Thr Ser
 1250 1255 1260
 Glu Gly Lys Glu Ile Lys Asn Lys Asp Glu Ile Leu Ala Leu Leu Lys
 1265 1270 1275 1280
 Ala Leu Phe Leu Pro Lys Arg Leu Ser Ile Ile His Cys Pro Gly His
 1285 1290 1295
 25 Gln Lys Gly His Ser Ala Glu Ala Arg Gly Asn Arg Met Ala Asp Gln
 1300 1305 1310
 Ala Ala Arg Lys Ala Ala Ile Thr Glu Thr Pro Asp Thr Ser Thr Leu
 1315 1320 1325
 Leu Ile Glu Asn Ser Ser Pro Tyr Thr Ser Glu His Phe His Tyr Thr
 1330 1335 1340
 30 Val Thr Asp Ile Lys Asp Leu Thr Lys Leu Gly Ala Ile Tyr Asp Lys
 1345 1350 1355 1360
 Thr Lys Lys Tyr Trp Val Tyr Gln Gly Lys Pro Val Met Pro Asp Gln
 1365 1370 1375
 Phe Thr Phe Glu Leu Leu Asp Phe Leu His Gln Leu Thr His Leu Ser
 1380 1385 1390
 Phe Ser Lys Met Lys Ala Leu Leu Glu Arg Ser His Ser Pro Tyr Tyr
 1395 1400 1405
 35 Met Leu Asn Arg Asp Arg Thr Leu Lys Asn Ile Thr Glu Thr Cys Lys
 1410 1415 1420
 Ala Cys Ala Gln Val Asn Ala Ser Lys Ser Ala Val Lys Gln Gly Thr
 1425 1430 1435 1440
 Arg Val Arg Gly His Arg Pro Gly Thr His Trp Glu Ile Asp Phe Thr
 1445 1450 1455
 40 Glu Ile Lys Pro Gly Leu Tyr Gly Tyr Lys Tyr Leu Leu Val Phe Ile
 1460 1465 1470
 Asp Thr Phe Ser Gly Trp Ile Glu Ala Phe Pro Thr Lys Lys Glu Thr
 1475 1480 1485
 Ala Lys Val Val Thr Lys Lys Leu Leu Glu Glu Ile Phe Pro Arg Phe
 1490 1495 1500
 45 Gly Met Pro Gln Val Leu Gly Thr Asp Asn Gly Pro Ala Phe Val Ser
 1505 1510 1515 1520
 Lys Val Ser Gln Thr Val Ala Asp Leu Leu Gly Ile Asp Trp Lys Leu
 1525 1530 1535
 His Cys Ala Tyr Arg Pro Gln Ser Ser Gly Gln Val Glu Arg Met Asn
 1540 1545 1550
 50 Arg Thr Ile Lys Glu Thr Leu Thr Lys Leu Thr Leu Ala Thr Gly Ser
 1555 1560 1565
 Arg Asp Trp Val Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Tyr Arg Ala Arg Asn
 1570 1575 1580

55

Thr Pro Gly Pro His Gly Leu Thr Pro Tyr Glu Ile Leu Tyr Gly Ala
 1585 1590 1595 1600
 5 Pro Pro Pro Leu Val Asn Phe Pro Asp Pro Asp Met Thr Arg Val Thr
 1605 1610 1615
 Asn Ser Pro Ser Leu Gln Ala His Leu Gln Ala Leu Tyr Leu Val Gln
 1620 1625 1630
 His Glu Val Trp Arg Pro Leu Ala Ala Tyr Gln Glu Gln Leu Asp
 1635 1640 1645
 Arg Pro Val Val Pro His Pro Tyr Arg Val Gly Asp Thr Val Trp Val
 1650 1655 1660
 10 Arg Arg His Gln Thr Lys Asn Leu Glu Pro Arg Trp Lys Gly Pro Tyr
 1665 1670 1675 1680
 Thr Val Leu Leu Thr Thr Pro Thr Ala Leu Lys Val Asp Gly Ile Ala
 1685 1690 1695
 Ala Trp Ile His Ala Ala His Val Lys Ala Ala Asp Pro Gly Gly Gly
 1700 1705 1710
 15 Pro Ser Ser Arg Leu Thr Trp Arg Val Gln Arg Ser Gln Asn Pro Leu
 1715 1720 1725
 Lys Ile Arg Leu Thr Arg Glu Ala Pro
 1730 1735

 20 <210> 14
 <211> 665
 <212> PRT
 <213> Moloney murine leukemia virus

 25 <220>
 <223> env-Protein

 <400> 14
 Met Ala Arg Ser Thr Leu Ser Lys Pro Leu Lys Asn Lys Val Asn Pro
 1 5 10 15
 Arg Gly Pro Leu Ile Pro Leu Ile Leu Leu Met Leu Arg Gly Val Ser
 20 25 30
 30 Thr Ala Ser Pro Gly Ser Ser Pro His Gln Val Tyr Asn Ile Thr Trp
 35 40 45
 Glu Val Thr Asn Gly Asp Arg Glu Thr Val Trp Ala Thr Ser Gly Asn
 50 55 60
 His Pro Leu Trp Thr Trp Trp Pro Asp Leu Thr Pro Asp Leu Cys Met
 65 70 75 80
 35 Leu Ala His His Gly Pro Ser Tyr Trp Gly Leu Glu Tyr Gln Ser Pro
 85 90 95
 Phe Ser Ser Pro Pro Gly Pro Pro Cys Cys Ser Gly Gly Ser Ser Pro
 100 105 110
 Gly Cys Ser Arg Asp Cys Glu Glu Pro Leu Thr Ser Leu Thr Pro Arg
 115 120 125
 40 Cys Asn Thr Ala Trp Asn Arg Leu Lys Leu Asp Gln Thr Thr His Lys
 130 135 140
 Ser Asn Glu Gly Phe Tyr Val Cys Pro Gly Pro His Arg Pro Arg Glu
 145 150 155 160
 Ser Lys Ser Cys Gly Gly Pro Asp Ser Phe Tyr Cys Ala Tyr Trp Gly
 165 170 175
 45 Cys Glu Thr Thr Gly Arg Ala Tyr Trp Lys Pro Ser Ser Ser Trp Asp
 180 185 190
 Phe Ile Thr Val Asn Asn Asn Leu Thr Ser Asp Gln Ala Val Gln Val
 195 200 205
 Cys Lys Asp Asn Lys Trp Cys Asn Pro Leu Val Ile Arg Phe Thr Asp
 210 215 220
 50 Ala Gly Arg Arg Val Thr Ser Trp Thr Thr Gly His Tyr Trp Gly Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Tyr Val Ser Gly Gln Asp Pro Gly Leu Thr Phe Gly Ile Arg
 245 250 255

55

5 Leu Arg Tyr Gln Asn Leu Gly Pro Arg Val Pro Ile Gly Pro Asn Pro
 Val Leu Ala 260 Gln Gln Pro Leu Ser Lys Pro Lys Pro Val Lys Ser
 Pro Ser Val 275 Thr Lys Pro Pro Ser Gly Thr Pro Leu Ser Pro Thr Gln
 Leu Pro Pro Ala Gly Thr 280 Asn Arg Leu Leu Asn Leu Val Asp Gly
 305 Ala Tyr Gln Ala Leu 310 Asn Leu Thr Ser Pro Asp Lys Thr Gln Glu Cys
 10 Trp Leu Cys Leu Val Ala Gly Pro Pro Tyr Tyr Glu Gly Val Ala Val
 Leu Gly Thr Tyr Ser Asn His Thr Ser Ala Pro Ala Asn Cys Ser Val
 Ala Ser Gln His Lys Leu Thr Leu Ser Glu Val Thr Gly Gln Gly Leu
 15 Cys Ile Gly Ala Val Pro Lys Thr His Gln Ala Leu Cys Asn Thr Thr
 385 Gln Thr Ser Ser Arg Gly Ser Tyr Tyr Leu Val Ala Pro Thr Gly Thr
 Met Trp Ala Cys Ser Thr Gly Leu Thr Pro Cys Ile Ser Thr Thr Ile
 20 Leu Asn Leu Thr Thr Asp Tyr Cys Val Leu Val Glu Leu Trp Pro Arg
 Val Thr Tyr His Ser Pro Ser Tyr Val Tyr Gly Leu Phe Glu Arg Ser
 Asn Arg His Lys Arg Glu Pro Val Ser Leu Thr Leu Ala Leu Leu Leu
 465 Gly Gly Leu Thr Met Gly Gly Ile Ala Ala Gly Ile Gly Thr Gly Thr
 25 Thr Ala Leu Met Ala Thr Gln Gln Phe Gln Gln Leu Gln Ala Ala Val
 Gln Asp Asp Leu Arg Glu Val Glu Lys Ser Ile Ser Asn Leu Glu Lys
 Ser Leu Thr Ser Leu Ser Glu Val Val Leu Gln Asn Arg Arg Gly Leu
 30 Asp Leu Leu Phe Leu Lys Glu Gly Gly Leu Cys Ala Ala Leu Lys Glu
 Glu Cys Cys Phe Tyr Ala Asp His Thr Gly Leu Val Arg Asp Ser Met
 Ala Lys Leu Arg Glu Arg Leu Asn Gln Arg Gln Lys Leu Phe Glu Ser
 35 Thr Gln Gly Trp Phe Glu Gly Leu Phe Asn Arg Ser Pro Trp Phe Thr
 Thr Leu Ile Ser Thr Ile Met Gly Pro Leu Ile Val Leu Leu Met Ile
 Leu Leu Phe Gly Pro Cys Ile Leu Asn Arg Leu Val Gln Phe Val Lys
 40 Asp Arg Ile Ser Val Val Gln Ala Leu Val Leu Thr Gln Gln Tyr His
 Gln Leu Lys Pro Ile Glu Tyr Glu Pro
 660 665

<210> 15
 <211> 9709
 <212> DNA
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 15
 tggaagggt aatttggtcc caaaaaagac aagagatcct tgatctgtgg atctaccaca 60
 cacaaggcta cttccctgat tggcagaact acacaccagg gccagggtac agatatccac 120
 50 tgacctttgg atggtgcttc aagtttagtac cagttgaacc agagcaagta gaagaggcca 180
 aataaggaga gaagaacagc ttgttacacc ctatgagcca gcatgggatg gaggaccggg 240

5 agggagaaagt attagtgtgg aagtttgaca gcctcctagc atttcgtcac atggcccag 300
 agctgcatcc ggagtgactac aaagactgct gacatcgagc tttctacaag ggactttccg 360
 ctgggggactt tccagggagg tgtggcctgg gcgggactgg ggagtggcga gccctcagat 420
 gctacatata agcagctgct ttttgctgt actgggtctc tctggttaga ccagatctga 480
 gcctggggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta agcctcaata aagcttgctt 540
 tgagtgtctca aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact ctggttaacta gagatccctc 600
 agaccctttt agtcagtgtg gaaaaatctt agcagtggcg cccgaacagg gacttgaaag 660
 cgaagtaaaa gccagaggag atctctcgac gcaggactcg gcttgctgaa gcgcgcacgg 720
 caagaggcga gggggcggcg ctgggtgagta cgccaaaaat tttgactagc ggaggctaga 780
 10 aggagagaga tgggtgagag agcgtcggtg ttaagcgggg gagaattaga taaatgggaa 840
 aaaattcggg taaggccagg gggaaagaaa caatataaac taaaacatat agtatgggca 900
 agcaggggagc tagaacgatt cgagttaat cctggccttt tagagacatc agaaggctgt 960
 agacaaatc tgggacagct ccaacccatc cttcagacag gatcagaaga acttagatca 1020
 ttatataata caatagcagt cctctattgt gtgcatcaaa ggatagatgt aaaagacacc 1080
 aaggagcct tagataagat agagggaagag caaacagccag gtcagccaaa gtaagaaaaa ggccacagcaa 1140
 15 gcagcagctg acacaggaaa caacagccag tcaggccata cttacccatg attaccctat agtcagaa 1200
 ctccaggggg aaatgggtaca cagccagaa gtaataccca tgttttcagc attatcagaa 1320
 gtagtgagag agaaggcttt caaacacag cttaaacacag tgggggggaca tcaagcagcc 1380
 ggagccaccc cacaagattt aaataccatg catcaatgag gaagctgcag aatgggagatg attgcatcca 1440
 atgcaaatgt taaaagagac accaggccag atgagagaac caaggggaag tgacatagca 1500
 gtgcatgagc ggctattgc ggaacaaata ggatggatga cacataatcc acctatccca 1560
 20 ggaactacta gtacccttca atggataatc ctgggattaa ataaaatagt aagaatgtat 1620
 gtagggagaa tctataaaa ggcattctgga cataagacaa aaccttttag agactatgta 1680
 agccctacca gacattctgga aagagccgag caagcttcac aagaggtaaa aaattggatg 1740
 gaccgattct ataaaactct aatgcaaac ccagattgta agactatttt aaaagcattg 1800
 acagaaacct tggttgctca aagaaatgat acagcatgtc agggagtggg gggaccggcg 1860
 ggacaggag cgacactaga agaaatgatg agccaagtaa caaatccagc taccataatg 1920
 25 cataaagcaa gacttttggc tgaagcaatg aagactgtta agtgtttcaa ttgtggcaaa 1980
 atacagaaag gcaattttag gaacaaaga cctaggaaaa agggctgttg gaaatgtgga 2040
 gaagggcaca tagccaaaaa ttgcagggct gagagacagg cttaattttt aggggaagatc 2100
 aagggaaggac accaaatgaa gccagggaat tttcttcaga gcagaccaga gccaacagcc 2160
 tggccttccc agagcttcag gtttggggaa gagacaacaa ctccctctca gaagcaggag 2220
 ccaccagaag aggaactgta tcttttagct tccctcagat cactcttggc cagcgacccc 2280
 ccgatagaca aggaactgta gggcaattaa aggaagctct attagataca ggagcagatg 2340
 30 tcgtcacaaat aaagataggg aatttgccag gaagatggaa accaaaaatg atagggggaa 2400
 atacagtatt agaagaaatg atcagatact atcagatact cataattgga agaaatctgt 2460
 ttggagggtt tatcaaaatg gtaggaccta cactgtcaa cattaattgga agaaatctgt 2520
 aagctatagg tacagtatta gtaggaccta cactgtcaa cattaattgga agaaatctgt 2580
 tgactcagat tggtgcaact ttaaaatttc ccattagctc tttgagact gtaccagtaa 2640
 aattaaagcc aggaatggat ggcccaaaag ttaaacaatg gccattgaca gaagaaaaaa 2700
 35 taaaagcatt agtagaaat ttgtacagaa ttgccaataa gaaaaaagac agtactaaat 2760
 ggctgaaaaa tccatacaat actccagtat ataagagaac tcaagatttc tgggaagttc 2820
 ggagaaaaat agtagatttc agagaactta aacagaaaaa atcagtaaca gtactggatg 2880
 aattaggaat accacatcct gcagggttaa gtagtagcat atcaatcat ggatgatttg 2940
 tggcgatgc atatttttca gagacaccag ggattagata tcagtacaat actgcattta 3000
 40 ccatacctag tataaacaat gcaatattcc agtgtagcat gacaaaaatc tttaggcctt 3060
 agggatggaa aggatcacca atagtcatct aaatagagga actgagacaa catctgttga 3120
 tttagaaaaa aaatccagac catagaacaa atcagaaaaa acctccattc ctttggatgg 3180
 ctgacttaga aatagggcag gacaaaaaac atcagaaaaa agtgctgcca gaaaaggaca 3240
 ggtggggatt taccacacca aaatggacag cagaaaaatt gaattgggca agtcagattt 3300
 gttatgaact ccatcctgat caatgacata caattatgta aacttcttag gggaaccaaa gcactaacag 3360
 45 atgcagggat taaagtaagg gaagcagagc tagaactggc agaaaacagg gagattctaa 3420
 aagtaaccgt acatggagtg tattatgacc catcaaaaga cttaatagca gaaatcagaa 3480
 agcaggggca aggccaatgg acatatcaaa tttatcaaga gccatttaaa aatctgaaaa 3540
 caggaaaaata tgcaagaatg aagggtgcc acactaatga tgtgaaacaa ttaacagagg 3600
 50 cagtaaaaaa aatagccaca gaaagcatag taatatgggg aaagactcct aaatttaaat 3660
 taccataca aaaggaaaca tgggaagcat ggtggacaga gtattggcaa gccacctgga 3720
 ttcttgagt ggagtgtgtc aataccctc ccttagtgaa gttatggtag cagttagaga 3780
 aagaacccat aataggagca gaaactttct atgtagatgg ggcaagcaat agggaaacta 3840
 aattaggaaa agcaggatat gtaactgaca gaggaagaca aaaagtgtc cccctaaccg 3900
 acacaacaaa tcagaagact gagttacaag caattcatct agctttgcag gattcgggat 3960
 tagaagtaaa catagtgaac gactcacaat atgcattggg aatcattcaa gcacaaccag 4020

| | | | | | | | |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| | ataagagtga | atcagagtta | gtcagtcaaa | taatagagca | gttaataaaa | aaggaaaaag | 4140 |
| | tctacctggc | atgggtacca | gcacacaaa | gaatttggagg | aaatgaacaa | gtagatgggt | 4200 |
| | tggtcagtg | tggaatcagg | aaagtactat | ttttagatgg | aatagataag | gcccagaag | 4260 |
| 5 | aacatgagaa | atatcacagt | aatttggagag | caatggctag | tgattttaac | ctaccacctg | 4320 |
| | tagtagcaaa | agaaatagta | gccagctgtg | ataaatgtca | gctaaaaagg | gaagccatgc | 4380 |
| | atggacaagt | agactgtagc | ccaggaatat | ggcagctaga | ttgtacacat | ttagaaggaa | 4440 |
| | aagttatctt | ggtagcagtt | catgtagcca | gttgatata | agaagcagaa | gtaatccag | 4500 |
| | cagagacagg | gcaagaaaca | gcatacttcc | tcttaaaatt | agcaggaaga | tggccagtaa | 4560 |
| | aaacagtaca | tacagacaat | ggcagcaatt | tcaccagtac | tacagttaag | gccgcctgtt | 4620 |
| 10 | ggtagggcggg | gatcaagcag | gaatttggca | ttccctacaa | tccccaaagt | caaggagtaa | 4680 |
| | tagaatctat | gaataaagaa | ttaaagaaaa | ttataggaca | ggtaagagat | caggctgaac | 4740 |
| | atcttaagac | agcagtacaa | atggcagtat | tcattccaaa | ttttaaaaaga | aaagggggga | 4800 |
| | ttgggggggta | cagtgacagg | gaaagaatag | tagacataat | agcaacagac | atacaaaacta | 4860 |
| | aagaattaca | aaaacaaatt | acaaaaattc | aaaaattttcg | ggttttattac | agggacagca | 4920 |
| | gagatccagt | ttggaaaagg | ccagcaaaagc | tcctctggaa | aggtgaagg | gcagtagtaa | 4980 |
| | tacaagataa | tagtgacata | aaagttagtgc | caagaagaaa | agcaaaagatc | atcagggtatt | 5040 |
| 15 | atggaaaaaca | gatggcagg | gatgattgtg | tggcaagtag | acaggatgag | gattaacaca | 5100 |
| | tggaaaaagat | tagtaaaaca | ccatatgtat | atttcaagga | aagctaagga | ctgggtttat | 5160 |
| | agacatcact | atgaaaagta | taattccaaa | ataagttcag | aagtacacat | cccactagg | 5220 |
| | gatgctaatt | tagtaataac | aacatattgg | ggctctgcata | caggagaaag | agactggcat | 5280 |
| | ttgggtcagg | gagtctccat | agaatggagg | aaaaagagat | atagcacaca | agtagaccct | 5340 |
| | gacctagcag | accaactaat | tcattctgcac | tattttgatt | gtttttcaga | atctgctata | 5400 |
| 20 | agaaatacca | tattaggacg | tatatgttagt | cctagggtgtg | aatatcaag | aggacataac | 5460 |
| | aaggtaggat | ctctacagta | cttggcacta | gcagcattaa | taaaacccaa | acagataaag | 5520 |
| | ccacctttgc | ctagtgttag | gaaactgaca | gaggacagat | ggaacaagcc | ccagaagacc | 5580 |
| | aagggccaca | gagggagcca | tacaatgaat | ggacactaga | gcttttagag | gaacttaaga | 5640 |
| | gtgaagctgt | tagacatttt | cctaggatat | ggctccataa | cttaggacaa | catatctatg | 5700 |
| | aaacttacgg | ggatacttgg | gcaggagtg | aagccataat | aagaattctg | caacaactgc | 5760 |
| 25 | tgtttatcca | tttcagaatt | gggtgtcgac | atagcagaat | aggcgttact | cgacagagga | 5820 |
| | gagcaagaaa | tggagccagt | agatcctaga | ctagagccct | ggaagcatcc | aggaagtcag | 5880 |
| | cctaaaactg | cttgtaccaa | ttgtctattgt | aaaaagtgtt | gctttcattg | ccaagtctgt | 5940 |
| | ttcatgacaa | aagccttagg | catctcctat | ggcaggaaga | agcggagaca | gcgacgaaga | 6000 |
| | gctcatcaga | acagtcagac | tctctatcaa | agcagtaagt | agcatatgta | agtaacatgta | 6060 |
| | atgcaacccta | taatagtagc | aatagtagca | ttagtagtag | caataataat | agcaatagtt | 6120 |
| | gttgtgtcca | tagtaatcat | agaatatagg | aaaatattaa | gacaaagaaa | aatagacagg | 6180 |
| 30 | ttaattgata | gactaataga | aagagcagaa | gacagtggca | atgagagtga | aggagaagta | 6240 |
| | ttcagcacttg | tggagatggg | gggtggaaatg | gggcaccatg | ctccttggga | tattgatgat | 6300 |
| | ctgtagtgt | acagaaaaat | tgtgggtcac | agtctattat | gggtgtacctg | tgtggaaagg | 6360 |
| | agcaaccacc | actctatttt | gtgcatcaga | tgctaaagca | tatgatacag | aggtacataa | 6420 |
| | tgtttgggccc | acacatgcct | gtgtaccac | agaccccaac | ccacaagaag | tagtattgggt | 6480 |
| | aaatgtgaca | gaaaatttta | acatgtggaa | aaatgacatg | gtagaacaga | tgcatgagga | 6540 |
| 35 | tataatcagt | ttatggggtc | aaagcctaaa | gcatgtgta | aaatttaacc | cactctgtgt | 6600 |
| | tagtttaag | tgcaactgatt | tgaagaatga | tactaatacc | aatagtagta | cgaggagaat | 6660 |
| | gataatggag | aaaggagaga | taaaaaactg | ctctttcaat | atcagcacia | gcataagaga | 6720 |
| | taagggtgcag | aaagaatatg | cattctttta | taaaactgat | atagtaccaa | tagataatc | 6780 |
| | cagctatagg | ttgataagtt | gtaacacctc | agtcattaca | caggcctgtc | caaagggtatc | 6840 |
| | ctttgagcca | atttccatac | attattgtgc | ccggctgggt | tttgcgattc | taaaatgtaa | 6900 |
| | taataagacg | ttcaatggaa | caggaccatg | tacaaatgtc | agcacagtac | aatgtacaca | 6960 |
| 40 | tggatcagg | ccagtagtat | caactcaact | gctgttaaat | ggcagcttag | cagaagaaga | 7020 |
| | tgtagttaatt | agatctgcca | atttcacaga | caatgctaaa | accataatag | tacagatgaa | 7080 |
| | cacatctgta | gaaatttaatt | gtacaagacc | caacaacaat | acaagaaaaa | gtatccgtat | 7140 |
| | ccagaggggga | ccagggagag | catttgttac | aataggaaaa | ataggaaata | tgagacaagc | 7200 |
| | acattgtaac | atttagtagag | caaaattggaa | tgccacttta | aaacagatag | ctagcaaat | 7260 |
| | aagagaacaa | tttggaaata | ataaaaacaat | aatctttaag | caatcctcag | gaggggaccc | 7320 |
| 45 | agaaattgta | acgcacagtt | tttaattgtg | agggggaattt | ttctactgta | attcaacaca | 7380 |
| | actgtttaatt | agtacttgg | tttaatagtac | ttggagtact | gaagggtcaa | ataaactgta | 7440 |
| | aggaaagtgc | acaatcacac | tcccattgcag | aatataaaca | tttataaaca | tgtggcagga | 7500 |
| | agtaggaaaa | gcaatgtatg | ccccctccat | cagtggacaa | attagatgtt | catcaaatat | 7560 |
| | tactgggctg | ctattaacaa | gagatgggtg | taataaacaac | aatgggtccg | agatcttcag | 7620 |
| | acctggagga | ggcgatatga | gggacaattg | gagaagtga | ttatataaat | ataaagttagt | 7680 |
| 50 | aaaaattgaa | ccattaggag | tagcacccac | caaggcaaaag | agaagagtgg | tgcaagagaga | 7740 |
| | aaaaagagca | gtgggaatag | gagctttgtt | ccttgggttc | ttgggagcag | caggaagcac | 7800 |
| | tatgggctgc | acgtcaatga | cgtgacgggt | acaggccaga | caattattgt | ctgatattgt | 7860 |
| | gcagcagcag | aacaatttgc | tgagggtctat | tgaggcgcaa | cagcatctgt | tgcaactcac | 7920 |

5 agtctggggc atcaaacagc tccaggcaag aatcctggct gtggaaagat acctaaagga 7980
 tcaacagctc ctgggggattt ggggttgctc tggaaaaactc atttgcacca ctgctgtgcc 8040
 ttgggaatgct agttggagta ataaatctct ggaacagatt tggaaataaca tgacctggat 8100
 ggagtgggac agagaaatta acaattacac aagcttaata cactccttaa ttgaagaatc 8160
 gcaaaaccag caagaaaaga atgaacaaga attattggaa ttagataaat gggcaagtgt 8220
 gtgggaattgg tttaacataa caaattggct gtggtatata aaattattca taatgatagt 8280
 aggaggcttg gtaggtttta gaatagtttt tgctgtactt tctatagtga atagagttag 8340
 gcagggatat tcaccattat cgttttcagac ccacctccca atcccagagg gaccgcagac 8400
 gcccgaagga atagaagaag aaggtggaga gagagacaga gacagatcca ttcgattagt 8460
 gaacggatcc ttagcactta tctgggacga tctgcggagc ctgtgcctct tcagctacca 8520
 10 ccgcttgaga gacttactct tgattgtaac gaggattgtg gaacttctgg gacgcagggg 8580
 gtgggaagcc ctcaaatatt ggtggaatct cctacagtat tggagtcagg aactaaagaa 8640
 tagtgctgtt aacttgctca atgcccacag catagcagta gctgaggggg cagatagggt 8700
 tatagaagta ttacaagcag ctatagagc tattcgccac atacctagaa gaataagaca 8760
 gggcttgtaa aggattttgc tataagatgg gtggcaagtg gtcaaaaagt agtgtgattg 8820
 gatggcctgc tgtaagggaag agaattgagc gagctgagcc agcagcagat ggggtgggag 8880
 15 cagtatctgc agacctagaa aaacatggag caatcacaa tagcaatata gcagctaaca 8940
 atgctgcttg tgccctggcta gaagcacaaagg agggagaaaga ggtggggttt ccagtcacac 9000
 ctcagggtacc ttttaagacca atgacttaca aggcagctgt agatccttag cactttttaa 9060
 aagaaaaggg gggactggaa gggctaattc actcccaaag aagacaagat atccttgatc 9120
 tgtggatcta ccacacacaa ggctacttcc ctgattggca gaactacaca ccaggggccag 9180
 gggctagata tccactgacc tttggatggg gctacaagct agtaccagt gagccagata 9240
 20 aggtagaaga ggccaataaa ggagagaaca ccagcttgtt acaccctgtg agcctgcatg 9300
 gaattggatga ccctgagaga gaagtgttag agtggagggt tgacagccgc ctagcatttc 9360
 atcacgtggc ccgagagctg catccggagt acttcaagaa ctgctgacat cgagcttgct 9420
 acaagggaact ttccgctggg gactttccag ggaggcgtgg cctgggaggag actggggagt 9480
 ggcgagccct cagatgctgc atataagcag ctgctttttg cctgtactgg gtctctctgg 9540
 ttagaccaga tctgagcctg ggagctctct ggctaactag ggaaccact gcttaagcct 9600
 25 caataaagct tgccctgagt gcttcaagta gtgtgtgccc gtctgttgtg tgactctggt 9660
 aactagagat ccctcagacc cttttagtca gtgtggaaaa tctctagca 9709

<210> 16
 <211> 500
 <212> PRT
 30 <213> Human immunodeficiency virus type 1

<220>
 <223> gag-Polyprotein

<400> 16
 35 Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Lys Trp
 1 5 10 15
 Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Gln Tyr Lys Leu Lys
 20 25 30
 His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
 35 40 45
 Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
 50 55 60
 40 Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
 65 70 75 80
 Thr Ile Ala Val Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Asp Val Lys Asp
 85 90 95
 Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
 100 105 110
 45 Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Asp Thr Gly Asn Asn Ser Gln Val
 115 120 125
 Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His
 130 135 140
 Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
 145 150 155 160
 50 Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
 165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
 180 185 190
 Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
 195 200 205
 Ala Ala Glu Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
 210 215 220
 Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
 225 230 235 240
 Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr His Asn Pro Pro Ile
 245 250 255
 Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys
 260 265 270
 Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
 275 280 285
 Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 295 300
 Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320
 Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
 325 330 335
 Leu Gly Pro Gly Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
 340 345 350
 Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365
 Gln Val Thr Asn Pro Ala Thr Ile Met Ile Gln Lys Gly Asn Phe Arg
 370 375 380
 Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400
 Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415
 Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430
 Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445
 Leu Gln Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
 450 455 460
 Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480
 Lys Glu Leu Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp
 485 490 495
 Pro Ser Ser Gln
 500

35

<210> 17
 <211> 1003
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

40

<220>
 <223> pol-Polyprotein

45

<400> 17
 Phe Phe Arg Glu Asp Leu Ala Phe Pro Gln Gly Lys Ala Arg Glu Phe
 1 5 10 15
 Ser Ser Glu Gln Thr Arg Ala Asn Ser Pro Thr Arg Arg Glu Leu Gln
 20 25 30
 Val Trp Gly Arg Asp Asn Asn Ser Leu Ser Glu Ala Gly Ala Asp Arg
 35 40 45
 Gln Gly Thr Val Ser Phe Ser Phe Pro Gln Ile Thr Leu Trp Gln Arg
 50 55 60
 Pro Leu Val Thr Ile Lys Ile Gly Gly Gln Leu Lys Glu Ala Leu Leu
 65 70 75 80

50

55

Asp Thr Gly Ala Asp Asp Thr Val Leu Glu Glu Met Asn Leu Pro Gly
 85 90 95
 5 Arg Trp Lys Pro Lys Met Ile Gly Gly Ile Gly Gly Phe Ile Lys Val
 100 105 110
 Gly Gln Tyr Asp Gln Ile Leu Ile Glu Ile Cys Gly His Lys Ala Ile
 115 120 125
 Gly Thr Val Leu Val Gly Pro Thr Pro Val Asn Ile Ile Gly Arg Asn
 130 135 140
 10 Leu Leu Thr Gln Ile Gly Cys Thr Leu Asn Phe Pro Ile Ser Pro Ile
 145 150 155 160
 Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Lys Val
 165 170 175
 Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val Glu Ile
 180 185 190
 Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu
 195 200 205
 15 Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr
 210 215 220
 Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln
 225 230 235 240
 Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys
 245 250 255
 20 Gln Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
 260 265 270
 Val Pro Leu Asp Lys Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro
 275 280 285
 Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu
 290 295 300
 25 Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr
 305 310 315 320
 Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr
 325 330 335
 Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln
 340 345 350
 30 His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg Trp Gly
 355 360 365
 Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp
 370 375 380
 Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Val
 385 390 395 400
 Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val
 405 410 415
 35 Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys Val Arg
 420 425 430
 Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu Val Val
 435 440 445
 Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile
 450 455 460
 40 Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu
 465 470 475 480
 Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr Gln Ile
 485 490 495
 Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Met
 500 505 510
 45 Lys Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln
 515 520 525
 Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe
 530 535 540
 Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Ala Trp Trp Thr Glu Tyr
 545 550 555 560
 Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro
 565 570 575
 50 Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Ile Gly Ala
 580 585 590

5 Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly
 595 600 605
 Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Val Val Pro Leu
 610 615 620
 Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile His Leu Ala
 625 630 635 640
 Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr
 645 650 655
 10 Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu
 660 665 670
 Val Ser Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys Val Tyr Leu
 675 680 685
 Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp
 690 695 700
 Gly Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile
 705 710 715 720
 15 Asp Lys Ala Gln Glu His Glu Lys Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala
 725 730 735
 Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile Val
 740 745 750
 20 Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His Gly Gln
 755 760 765
 Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln Leu Asp Cys Thr His Leu Glu
 770 775 780
 Gly Lys Val Ile Leu Val Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu
 785 790 795 800
 25 Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu
 805 810 815
 Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val Lys Thr Val His Thr Asp Asn
 820 825 830
 Gly Ser Asn Phe Thr Ser Thr Thr Val Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala
 835 840 845
 30 Gly Ile Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly
 850 855 860
 Val Ile Glu Ser Met Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val
 865 870 875 880
 Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe
 885 890 895
 Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly
 900 905 910
 35 Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Thr Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu
 915 920 925
 Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp
 930 935 940
 Ser Arg Asp Pro Val Trp Lys Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly
 945 950 955 960
 40 Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro
 965 970 975
 Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly
 980 985 990
 Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln Asp Glu Asp
 995 1000

45

<210> 18
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

50

<220>
 <223> viv-Protein

55

<400> 18
 Met Glu Asn Arg Trp Gln Val Met Ile Val Trp Gln Val Asp Arg Met
 1 5 10 15
 5 Arg Ile Asn Thr Trp Lys Arg Leu Val Lys His His Met Tyr Ile Ser
 20 25 30
 Arg Lys Ala Lys Asp Trp Phe Tyr Arg His His Tyr Glu Ser Thr Asn
 35 40 45
 Pro Lys Ile Ser Ser Glu Val His Ile Pro Leu Gly Asp Ala Lys Leu
 50 55 60
 10 Val Ile Thr Thr Tyr Trp Gly Leu His Thr Gly Glu Arg Asp Trp His
 65 70 75 80
 Leu Gly Gln Gly Val Ser Ile Glu Trp Arg Lys Lys Arg Tyr Ser Thr
 85 90 95
 Gln Val Asp Pro Asp Leu Ala Asp Gln Leu Ile His Leu His Tyr Phe
 100 105 110
 15 Asp Cys Phe Ser Glu Ser Ala Ile Arg Asn Thr Ile Leu Gly Arg Ile
 115 120 125
 Val Ser Pro Arg Cys Glu Tyr Gln Ala Gly His Asn Lys Val Gly Ser
 130 135 140
 Leu Gln Tyr Leu Ala Leu Ala Ala Leu Ile Lys Pro Lys Gln Ile Lys
 145 150 155 160
 Pro Pro Leu Pro Ser Val Arg Lys Leu Thr Glu Asp Arg Trp Asn Lys
 165 170 175
 20 Pro Gln Lys Thr Lys Gly His Arg Gly Ser His Thr Met Asn Gly His
 180 185 190

25 <210> 19
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

30 <220>
 <223> vpr-Protein

<400> 19
 Met Glu Gln Ala Pro Glu Asp Gln Gly Pro Gln Arg Glu Pro Tyr Asn
 1 5 10 15
 Glu Trp Thr Leu Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Ser Glu Ala Val Arg
 20 25 30
 35 His Phe Pro Arg Ile Trp Leu His Asn Leu Gly Gln His Ile Tyr Glu
 35 40 45
 Thr Tyr Gly Asp Thr Trp Ala Gly Val Glu Ala Ile Ile Arg Ile Leu
 50 55 60
 Gln Gln Leu Leu Phe Ile His Phe Arg Ile Gly Cys Arg His Ser Arg
 65 70 75 80
 40 Ile Gly Val Thr Arg Gln Arg Arg Ala Arg Asn Gly Ala Ser Arg Ser
 85 90 95

45 <210> 20
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

<220>
 <223> tat-Protein

50 <400> 20
 Met Glu Pro Val Asp Pro Arg Leu Glu Pro Trp Lys His Pro Gly Ser
 1 5 10 15

55

5 Gln Pro Lys Thr Ala Cys Thr Asn Cys Tyr Cys Lys Lys Cys Cys Phe
 20 25 30
 His Cys Gln Val Cys Phe Met Thr Lys Ala Leu Gly Ile Ser Tyr Gly
 35 40 45
 Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Ala His Gln Asn Ser Gln Thr
 50 55 60
 His Gln Ala Ser Leu Ser Lys Gln Pro Thr Ser Gln Ser Arg Gly Asp
 65 70 75 80
 10 Pro Thr Gly Pro Lys Glu
 85

<210> 21
 <211> 116
 <212> PRT
 15 <213> Human immunodeficiency virus type 1

<220>
 <223> rev-Protein
 <400> 21
 20 Met Ala Gly Arg Ser Gly Asp Ser Asp Glu Glu Leu Ile Arg Thr Val
 1 5 10 15
 Arg Leu Ile Lys Leu Leu Tyr Gln Ser Asn Pro Pro Pro Asn Pro Glu
 20 25 30
 Gly Thr Arg Gln Ala Arg Arg Asn Arg Arg Arg Trp Arg Glu Arg
 35 40 45
 25 Gln Arg Gln Ile His Ser Ile Ser Glu Arg Ile Leu Ser Thr Tyr Leu
 50 55 60
 Gly Arg Ser Ala Glu Pro Val Pro Leu Gln Leu Pro Pro Leu Glu Arg
 65 70 75 80
 Leu Thr Leu Asp Cys Asn Glu Asp Cys Gly Thr Ser Gly Thr Gln Gly
 85 90 95
 30 Val Gly Ser Pro Gln Ile Leu Val Glu Ser Pro Thr Val Leu Glu Ser
 100 105 110
 Gly Thr Lys Glu
 115

35 <210> 22
 <211> 81
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

<220>
 40 <223> vpu-Protein

<400> 22
 Met Gln Pro Ile Ile Val Ala Ile Val Ala Leu Val Val Ala Ile Ile
 1 5 10 15
 Ile Ala Ile Val Val Trp Ser Ile Val Ile Ile Glu Tyr Arg Lys Ile
 20 25 30
 45 Leu Arg Gln Arg Lys Ile Asp Arg Leu Ile Asp Arg Leu Ile Glu Arg
 35 40 45
 Ala Glu Asp Ser Gly Asn Glu Ser Glu Gly Glu Val Ser Ala Leu Val
 50 55 60
 Glu Met Gly Val Glu Met Gly His His Ala Pro Trp Asp Ile Asp Asp
 65 70 75 80
 50 Leu

55

<210> 23
 <211> 854
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

 <220>
 <223> Huell-Protein

 <400> 23
 10 Met Arg Val Lys Glu Lys Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp Gly Trp Lys
 1 5 10 15
 Trp Gly Thr Met Leu Leu Gly Ile Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu
 20 25 30
 Lys Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
 35 40 45
 15 Thr Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu
 50 55 60
 Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
 65 70 75 80
 Pro Gln Glu Val Val Leu Val Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
 85 90 95
 20 Lys Asn Asp Met Val Glu Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
 100 105 110
 Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Ser
 115 120 125
 Leu Lys Cys Thr Asp Leu Lys Asn Asp Thr Asn Thr Asn Ser Ser Ser
 130 135 140
 25 Gly Arg Met Ile Met Glu Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys Ser Phe Asn
 145 150 155 160
 Ile Ser Thr Ser Ile Arg Asp Lys Val Gln Lys Glu Tyr Ala Phe Phe
 165 170 175
 Tyr Lys Leu Asp Ile Val Pro Ile Asp Asn Thr Ser Tyr Arg Leu Ile
 180 185 190
 Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe
 195 200 205
 30 Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu
 210 215 220
 Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val
 225 230 235 240
 Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Arg Pro Val Val Ser Thr Gln
 245 250 255
 35 Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Glu Asp Val Val Ile Arg Ser
 260 265 270
 Ala Asn Phe Thr Asp Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val Gln Leu Asn Thr
 275 280 285
 Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser
 290 295 300
 40 Ile Arg Ile Gln Arg Gly Pro Gly Arg Ala Phe Val Thr Ile Gly Lys
 305 310 315 320
 Ile Gly Asn Met Arg Gln Ala His Cys Asn Ile Ser Arg Ala Lys Trp
 325 330 335
 Asn Ala Thr Leu Lys Gln Ile Ala Ser Lys Leu Arg Glu Gln Phe Gly
 340 345 350
 45 Asn Asn Lys Thr Ile Ile Phe Lys Gln Ser Ser Gly Gly Asp Pro Glu
 355 360 365
 Ile Val Thr His Ser Phe Asn Cys Gly Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn
 370 375 380
 Ser Thr Gln Leu Phe Asn Ser Thr Trp Phe Asn Ser Thr Trp Ser Thr
 385 390 395 400
 50 Glu Gly Ser Asn Asn Thr Glu Gly Ser Asp Thr Ile Thr Leu Pro Cys
 405 410 415
 Arg Ile Lys Gln Phe Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Lys Ala Met
 420 425 430

Tyr Ala Pro Pro Ile Ser Gly Gln Ile Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr
 435 440 445
 Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Asn Asn Asn Asn Gly Ser Glu
 450 455 460
 Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu
 465 470 475 480
 Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro
 485 490 495
 Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly
 500 505 510
 Ile Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met
 515 520 525
 Gly Cys Thr Ser Met Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser
 530 535 540
 Asp Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln
 545 550 555 560
 Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala
 565 570 575
 Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly
 580 585 590
 Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp
 595 600 605
 Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Glu Gln Ile Trp Asn Asn Met
 610 615 620
 Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile
 625 630 635 640
 His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln
 645 650 655
 Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asn
 660 665 670
 Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Leu Phe Ile Met Ile Val Gly
 675 680 685
 Gly Leu Val Gly Leu Arg Ile Val Phe Ala Val Leu Ser Ile Val Asn
 690 695 700
 Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr His Leu Pro
 705 710 715 720
 Ile Pro Arg Gly Pro Asp Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu Glu Gly Gly
 725 730 735
 Glu Arg Asp Arg Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Ser Leu Ala
 740 745 750
 Leu Ile Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg
 755 760 765
 Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu Leu Leu Gly
 770 775 780
 Arg Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu Leu Gln Tyr
 785 790 795 800
 Trp Ser Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Val Asn Leu Leu Asn Ala Thr
 805 810 815
 Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Val Leu Gln
 820 825 830
 Ala Ala Tyr Arg Ala Ile Arg His Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly
 835 840 845
 Leu Glu Arg Ile Leu Leu
 850

50

55

5 <210> 24
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus type 1

<220>
 <223> nef-Protein

10 <400> 24
 Met Gly Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Val Ile Gly Trp Pro Ala Val
 1 5 10 15
 Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly Val Gly Ala
 20 25 30
 Val Ser Arg Asp Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser Ser Asn Thr
 35 40 45
 15 Ala Ala Asn Asn Ala Ala Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Glu
 50 55 60
 Glu Val Gly Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Tyr Lys Ala Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly
 85 90 95
 20 Leu Glu Gly Leu Ile His Ser Gln Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu
 100 105 110
 Trp Ile Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr
 115 120 125
 Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Tyr Lys
 130 135 140
 25 Leu Val Pro Val Glu Pro Asp Lys Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu
 145 150 155 160
 Asn Thr Ser Leu Leu His Pro Val Ser Leu His Gly Met Asp Asp Pro
 165 170 175
 Glu Arg Glu Val Leu Glu Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His
 180 185 190
 30 His Val Ala Arg Glu Leu His Pro Glu Tyr Phe Lys Asn Cys
 195 200 205

35 <210> 25
 <211> 1497
 <212> DNA
 <213> Kuenstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der kuenstlichen Sequenz:
 LCMV-Variante WE-HPI

40 <220>
 <221> CDS
 <222> ()..(1497)
 <223> LCMV GP-Variante (Open reading frame)

45 <220>
 <223> Mutationen gegenueber <400> 1 (2) an Positionen
 281 (94), 329 (110), 385 (129), 397 (133), 463
 (155), 521 (174), 543 (181), 631 (211), 793 (265),
 1039 (347), 1363 (455) und 1370 (457).

50 <400> 25
 atg ggt cag att gtg aca atg ttt gag gct ttg cct cac atc att gat 48
 Met Gly Gln Ile Val Thr Met Phe Glu Ala Leu Pro His Ile Ile Asp
 1 5 10 15

55

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 5 | gag gtc atc aac att gtc att att gtg ctc att ata atc acg agc atc 96 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Glu Val Ile Asn Ile Val Ile Ile Val Leu Ile Ile Ile Thr Ser Ile 30 | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | aaa gct gtg tac aat ttc gcc acc tgt ggg ata tta gca ctg gtc agc 144 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Lys Ala Val Tyr Asn Phe Ala Thr Cys Gly Ile Leu Ala Leu Val Ser 35 40 45 | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | ttc ctt ttt ttg gct ggt agg tcc tgt ggc atg tac ggc ctt aat ggt 192 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Phe Leu Phe Leu Ala Gly Arg Ser Cys Gly Met Tyr Gly Leu Asn Gly 50 55 60 | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | ccc gac atc tat aaa ggg gtt tac cag ttc aaa tca gtg gag ttt gat 240 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Pro Asp Ile Tyr Lys Gly Val Tyr Gln Phe Lys Ser Val Glu Phe Asp 65 70 75 80 | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | atg tct cac tta aat ctg acg atg ccc aat gcg tgc tca gcc aac aac 288 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Met Ser His Leu Asn Leu Thr Met Pro Asn Ala Cys Ser Ala Asn Asn 85 90 95 | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | tct cat cac tac atc agt atg gga agc tct gga ctg gag cta act ttc 336 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Ser His His Tyr Ile Ser Met Gly Ser Ser Gly Leu Glu Leu Thr Phe 100 105 110 | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | act aac gac tcc atc ctt aat cac aat ttt tgc aac tta acc tcc gct 384 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Thr Asn Asp Ser Ile Leu Asn His Asn Phe Cys Asn Leu Thr Ser Ala 115 120 125 | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | ttc aac aaa aag act ttt gac cat aca ctc atg agt ata gtc tcg agt 432 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Phe Asn Lys Lys Thr Phe Asp His Thr Leu Met Ser Ile Val Ser Ser 130 135 140 | | | | | | | | | | | | | | |
| 45 | ctg cac ctc agt att aga ggg aat tcc aac cac aaa gca gtg tct tgt 480 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Leu His Leu Ser Ile Arg Gly Asn Ser Asn His Lys Ala Val Ser Cys 145 150 155 160 | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | gat ttt aac aat ggc atc acc att caa tac aac ttg tca ttt tcg gac 528 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Asp Phe Asn Asn Gly Ile Thr Ile Gln Tyr Asn Leu Ser Phe Ser Asp 165 170 175 | | | | | | | | | | | | | | |
| 55 | cca cag agc gct ata agc cag tgt agg act ttc aga ggt aga gtc ttg 576 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Pro Gln Ser Ala Ile Ser Gln Cys Arg Thr Phe Arg Gly Arg Val Leu 180 185 190 | | | | | | | | | | | | | | |
| 60 | gac atg ttt aga act gcc ttt gga gga aaa tac atg aga agt ggc tgg 624 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Asp Met Phe Arg Thr Ala Phe Gly Gly Lys Tyr Met Arg Ser Gly Trp 195 200 205 | | | | | | | | | | | | | | |
| 65 | ggc tgg gca ggt tca gat ggc aag acc act tgg tgc agc caa aca agc 672 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Gly Trp Ala Gly Ser Asp Gly Lys Thr Thr Trp Cys Ser Gln Thr Ser 210 215 220 | | | | | | | | | | | | | | |
| 70 | tat cag tac cta atc ata caa aac agg act tgg gaa aac cac tgt aga 720 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Arg Thr Trp Glu Asn His Cys Arg 225 230 235 240 | | | | | | | | | | | | | | |
| 75 | tat gca ggc cct ttt ggg atg tct aga atc ctc ttt gct cag gaa aag 768 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Tyr Ala Gly Pro Phe Gly Met Ser Arg Ile Leu Phe Ala Gln Glu Lys 245 250 255 | | | | | | | | | | | | | | |
| 80 | aca aag ttt ctc act agg aga ctt gca ggc aca ttc acc tgg acc ctg 816 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Thr Lys Phe Leu Thr Arg Arg Leu Ala Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu 260 265 270 | | | | | | | | | | | | | | |

| | | |
|----|--|------|
| 5 | tca gac tcc tca gga gta gaa aat cca ggt ggt tat tgc ctg acc aaa Ser Asp Ser Ser Gly Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Lys | 864 |
| | 275 280 285 | |
| | tgg atg atc ctt gct gca gag ctc aaa tgt ttt ggg aat aca gct gtt Trp Met Ile Leu Ala Ala Glu Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val | 912 |
| | 290 295 300 | |
| 10 | gca aaa tgt aat gtc aat cat gat gaa gag ttc tgt gac atg cta cga Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg | 960 |
| | 305 310 315 320 | |
| | cta att gat tac aac aag gcc gcc ctg agt aag ttc aag caa gat gta Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Gln Asp Val | 1008 |
| | 325 330 335 | |
| 15 | gag tct gcc ttg cat gta ttc aaa aca aca gta aat tct ctg att tcc Glu Ser Ala Leu His Val Phe Lys Thr Thr Val Asn Ser Leu Ile Ser | 1056 |
| | 340 345 350 | |
| 20 | gat cag ctg ttg atg agg aat cat cta aga gat cta atg ggg gta cca Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro | 1104 |
| | 355 360 365 | |
| | tac tgt aat tac tca aag ttc tgg tat ctg gaa cat gct aag act ggt Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly | 1152 |
| | 370 375 380 | |
| 25 | gag act agt gta ccc aag tgc tgg ctt gtc act aat ggc tcc tac ttg Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu | 1200 |
| | 385 390 395 400 | |
| 30 | aat gag acc cac ttt agt gat caa atc gaa caa gaa gca gat aac atg Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met | 1248 |
| | 405 410 415 | |
| | atc aca gag atg ttg agg aag gac tac ata aaa aga caa ggg agt act Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr | 1296 |
| | 420 425 430 | |
| 35 | cct tta gcc tta atg gat ctt ttg atg ttt tca aca tca gca tat cta Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu | 1344 |
| | 435 440 445 | |
| 40 | atc agc atc ttt ctg cat ctt gtg aag ata cca aca cat aga cac ata Ile Ser Ile Phe Leu His Leu Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile | 1392 |
| | 450 455 460 | |
| | aag ggc ggt tca tgt cca aag cca cac cgc ttg acc aac aag ggg atc Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Asn Lys Gly Ile | 1440 |
| | 465 470 475 480 | |
| 45 | tgt agt tgt ggt gca ttc aag gtg cct ggt gta aaa act atc tgg aaa Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Lys Thr Ile Trp Lys | 1488 |
| | 485 490 495 | |
| | aga cgc tga Arg Arg | 1497 |

<210> 26
 <211> 498
 <212> PRT
 <213> Kuenstliche Sequenz

5

<400> 26
 Met Gly Gln Ile Val Thr Met Phe Glu Ala Leu Pro His Ile Ile Asp
 1 5 10 15
 Glu Val Ile Asn Ile Val Ile Ile Val Leu Ile Ile Thr Ser Ile
 20 25 30
 Lys Ala Val Tyr Asn Phe Ala Thr Cys Gly Ile Leu Ala Leu Val Ser
 35 40 45
 Phe Leu Phe Leu Ala Gly Arg Ser Cys Gly Met Tyr Gly Leu Asn Gly
 50 55 60
 Pro Asp Ile Tyr Lys Gly Val Tyr Gln Phe Lys Ser Val Glu Phe Asp
 65 70 75 80
 Met Ser His Leu Asn Leu Thr Met Pro Asn Ala Cys Ser Ala Asn Asn
 85 90 95
 Ser His His Tyr Ile Ser Met Gly Ser Ser Gly Leu Glu Leu Thr Phe
 100 105 110
 Thr Asn Asp Ser Ile Leu Asn His Asn Phe Cys Asn Leu Thr Ser Ala
 115 120 125
 Phe Asn Lys Lys Thr Phe Asp His Thr Leu Met Ser Ile Val Ser Ser
 130 135 140
 Leu His Leu Ser Ile Arg Gly Asn Ser Asn His Lys Ala Val Ser Cys
 145 150 155 160
 Asp Phe Asn Asn Gly Ile Thr Ile Gln Tyr Asn Leu Ser Phe Ser Asp
 165 170 175
 Pro Gln Ser Ala Ile Ser Gln Cys Arg Thr Phe Arg Gly Arg Val Leu
 180 185 190
 Asp Met Phe Arg Thr Ala Phe Gly Gly Lys Tyr Met Arg Ser Gly Trp
 195 200 205
 Gly Trp Ala Gly Ser Asp Gly Lys Thr Thr Trp Cys Ser Gln Thr Ser
 210 215 220
 Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Arg Thr Trp Glu Asn His Cys Arg
 225 230 235 240
 Tyr Ala Gly Pro Phe Gly Met Ser Arg Ile Leu Phe Ala Gln Glu Lys
 245 250 255
 Thr Lys Phe Leu Thr Arg Arg Leu Ala Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu
 260 265 270
 Ser Asp Ser Ser Gly Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Lys
 275 280 285
 Trp Met Ile Leu Ala Ala Glu Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val
 290 295 300
 Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg
 305 310 315 320
 Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Gln Asp Val
 325 330 335
 Glu Ser Ala Leu His Val Phe Lys Thr Thr Val Asn Ser Leu Ile Ser
 340 345 350
 Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro
 355 360 365
 Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly
 370 375 380
 Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu
 385 390 395 400
 Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met
 405 410 415
 Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr
 420 425 430
 Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu
 435 440 445
 Ile Ser Ile Phe Leu His Leu Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile
 450 455 460

55

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Lys | Gly | Gly | Ser | Cys | Pro | Lys | Pro | His | Arg | Leu | Thr | Asn | Lys | Gly | Ile |
| | 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 |
| 5 | Cys | Ser | Cys | Gly | Ala | Phe | Lys | Val | Pro | Gly | Val | Lys | Thr | Ile | Trp | Lys |
| | | | | | 485 | | | | | 490 | | | | | 495 | |
| | Arg | Arg | | | | | | | | | | | | | | |

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

ANLAGE ZUM SEQUENZPROTOKOLL

5 (Anmerkung: Die folgenden Angaben sind der Datenbank des National Institute of Health (NIH), U.S.A., entnommen. Die ursprünglich darin enthaltenen Nuklein- und Aminosäuresequenzen wurden durch den Verweis auf die entsprechende SEQ ID NO. (numerische Kennzahl <400> nach WIPO Standard ST. 25) des Sequenzprotokolls ersetzt.)

10

ZU SEQ ID NO: 1

LOCUS LCVSRNA 3375 bp ss-RNA VRL 15-JUN-1989
 DEFINITION Lymphocytic choriomeningitis virus S RNA, complete cds.
 ACCESSION M22138
 15 NID g331379
 KEYWORDS S RNA; small RNA.
 SOURCE Lymphocytic choriomeningitis virus (strain WE), cDNA to viral RNA.
 ORGANISM Lymphocytic choriomeningitis virus
 Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Arenaviridae; Arenavirus;
 1-LCMV-LASV complex.
 20 REFERENCE 1 (bases 1 to 3375)
 AUTHORS Romanowski,V., Matsuura,Y. and Bishop,D.H.L.
 TITLE Complete sequence of the S RNA of Lymphocytic choriomeningitis
 virus (WE strain) compared to that of Pichinde arenavirus
 JOURNAL Virus Res. 3, 101-114 (1985)
 MEDLINE 86046554
 25 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..3375
 /organism="Lymphocytic choriomeningitis virus"
 /db_xref="taxon:11623"
 CDS 78..1574
 /note="S protein"
 /codon_start=1
 /db_xref="PID:g331380"
 30 /translation=SEQ ID NO: 2
 BASE COUNT 881 a 786 c 725 g 983 t

ZU SEQ ID NO: 3

35 LOCUS LCVGPNP 3376 bp ss-RNA VRL 15-JUN-1989
 DEFINITION Lymphocytic choriomeningitis virus envelope glycoprotein (GP-C)
 and nucleoprotein (NP) genes, complete cds.
 ACCESSION M20869
 NID g331358
 KEYWORDS envelope protein; nucleoprotein.
 40 SOURCE Lymphocytic choriomeningitis virus (strain Armstrong 53b), cDNA
 to viral RNA.
 ORGANISM Lymphocytic choriomeningitis virus
 Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Arenaviridae; Arenavirus;
 1-LCMV-LASV complex.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 3376)
 45 AUTHORS Salvato,M., Shimomaye,E., Southern,P. and Oldstone,M.B.A.
 TITLE Virus-lymphocyte interactions: IV. Molecular characterization of
 LCMV Armstrong (CTL+) small genomic segment and that of its
 variant, clone 13 (CTL-)
 JOURNAL Virology 164, 517-522 (1988)
 MEDLINE 88219540
 50 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..3376
 /organism="Lymphocytic choriomeningitis virus"

55

```

5          /db_xref="taxon:11623"
CDS        78..1574
           /note="envelope glycoprotein"
           /codon_start=1
           /db_xref="PID:g331359"
           /translation=SEQ ID NO: 4
variation  856
           /note="t in ARM 53b; c in ARM 53b Clone 13"
variation  1298
           /note="t in ARM 53b; c in ARM 53b Clone 13"
10        CDS        complement(1639..3315)
           /note="nucleoprotein"
           /codon_start=1
           /db_xref="PID:g331360"
           /translation=SEQ ID NO: 5
15        BASE COUNT      868 a      809 c      748 g      951 t

```

ZU SEQ ID NO: 6

```

20        LOCUS      LCVLPY      6680 bp ss-RNA      VRL      17-MAY-1995
DEFINITION  Lymphocytic choriomeningitis virus putative RNA polymerase L gene,
complete cds.
ACCESSION   J04331
NID         g331368
KEYWORDS    L protein; RNA polymerase.
SOURCE      Lymphocytic choriomeningitis virus (strain Armstrong 53b) RNA.
ORGANISM    Lymphocytic choriomeningitis virus
25          Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Arenaviridae; Arenavirus;
1-LCMV-LASV complex.
REFERENCE   1 (bases 1 to 6680)
AUTHORS     Salvato,M., Shimomaye,E. and Oldstone,M.B.
TITLE       The primary structure of the lymphocytic choriomeningitis virus
L gene encodes a putative RNA polymerase
30          JOURNAL   Virology 169 (2), 377-384 (1989)
MEDLINE     89204909
COMMENT     Draft entry and computer-readable sequence of [1] kindly submitted
by M.Salvato, 18-JAN-1989.
FEATURES    Location/Qualifiers
            source     1..6680
                        /organism="Lymphocytic choriomeningitis virus"
35                        /strain="Armstrong 53b"
                        /db_xref="taxon:11623"
CDS         33..6665
            /codon_start=1
            /product="L protein"
            /db_xref="PID:g331369"
            /translation=SEQ ID NO: 7
40          CDS        complement(6371..6658)
            /note="ORF; putative"
            /codon_start=1
            /product="unknown protein"
            /db_xref="PID:g808709"
            /translation=SEQ ID NO: 8
45          BASE COUNT      2065 a      1153 c      1543 g      1919 t

```

ZU SEQ ID NO: 9

```

50        LOCUS      HUMEF1A      4695 bp      DNA      PRI      07-NOV-1994
DEFINITION  Human elongation factor EF-1-alpha gene, complete cds.
ACCESSION   J04617 J04616
NID         g181962
KEYWORDS    elongation factor.

```

55

SOURCE Human placenta DNA, clone pEFG1, and fibroblast cell line GM 637,
cDNA to mRNA, (library of H.Okayama), clone pAN7.

ORGANISM Homo sapiens
Eukaryotae; mitochondrial eukaryotes; Metazoa; Chordata;
Vertebrata; Eutheria; Primates; Catarrhini; Hominidae; Homo..

REFERENCE 1 (bases 1 to 4695)

AUTHORS Uetsuki,T., Naito,A., Nagata,S. and Kaziro,Y.

TITLE Isolation and characterization of the human chromosomal gene for
polypeptide chain elongation factor-1 alpha

JOURNAL J. Biol. Chem. 264 (10), 5791-5798 (1989)

MEDLINE 89174636

COMMENT Draft entry and computer-readable sequence for [1] kindly provided
by S.Nagata, 20-JAN-1989.

FEATURES Location/Qualifiers

| | |
|-----------------|--|
| source | 1..4695 |
| | /organism="Homo sapiens" |
| | /db_xref="taxon:9606" |
| | /map="Unassigned" |
| misc_binding | 205..214 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| misc_binding | 320..328 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| misc_binding | 332..340 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| TATA_signal | 546..552 |
| prim_transcript | 576..4087 |
| | /note="EF-1-alpha mRNA and introns" |
| intron | 609..1551 |
| | /note="EF-1-alpha intron A" |
| misc_binding | 983..992 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| misc_binding | 1026..1034 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| misc_binding | 1122..1131 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| misc_binding | 1132..1141 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| misc_binding | 1240..1249 |
| | /bound_moiety="Sp1" |
| misc_binding | 1302..1308 |
| | /bound_moiety="Apl" |
| exon | <1582..1725 |
| | /gene="EEF1A" |
| | /note="elongation factor EF-1-alpha" |
| | /number=2 |
| gene | join(1582..1725,2092..2271,2377..2673,2757..2907, 2995..3251,3341..3575,3671..3795) |
| | /gene="EEF1A" |
| CDS | join(1582..1725,2092..2271,2377..2673,2757..2907, 2995..3251,3341..3575,3671..3795) |
| | /gene="EEF1A" |
| | /note="elongation factor EF-1-alpha" |
| | /codon_start=1 |
| | /db_xref="GDB:G00-118-791" |
| | /db_xref="PID:g181963" |
| | /translation=SEQ ID NO: 10 |
| intron | 1726..2091 |
| | /note="EF-1-alpha intron B" |
| exon | 2092..2271 |
| | /gene="EEF1A" |
| | /number=3 |
| intron | 2272..2376 |
| | /note="EF-1-alpha intron C" |
| exon | 2377..2673 |

```

5          intron      /gene="EEF1A"
                      /number=4
                      2674..2756
                      /note="EF-1-alpha intron D"
          exon        2757..2907
                      /gene="EEF1A"
                      /number=5
          intron      2908..2994
                      /note="EF-1-alpha intron E"
10         exon        2995..3251
                      /gene="EEF1A"
                      /number=6
          intron      3252..3340
                      /note="EF-1-alpha intron F"
          exon        3341..3575
                      /gene="EEF1A"
15         intron      3576..3670
                      /note="EF-1-alpha intron G"
          exon        3671..3795
                      /gene="EEF1A"
                      /note="elongation factor EF-1-alpha"
20         BASE COUNT 1200 a   989 c   1235 g   1271 t
                      /number=8

```

ZU SEQ ID NO: 11

```

25 LOCUS      AF033811      8332 bp      RNA      VRL      05-FEB-1998
   DEFINITION Moloney murine leukemia virus, complete genome.
   ACCESSION  AF033811
   NID        g2801468
   KEYWORDS
   SOURCE     Moloney murine leukemia virus.
30   ORGANISM  Moloney murine leukemia virus
              Viruses; Retroviral viruses; Retroviridae; Mammalian type C
              retroviruses; 1-Mammalian type C virus group.
   REFERENCE  1 (bases 1 to 8332)
   AUTHORS    Petropoulos,C.J.
   TITLE      Appendix 2: Retroviral taxonomy, protein structure, sequences, and
35   JOURNAL    genetic maps
              (in) Coffin,J.M. (Ed.);
              RETROVIRUSES: 757;
              Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York,
              NY, USA (1997)
   REFERENCE  2 (bases 1 to 8332)
   AUTHORS    Chappey,C.
40   TITLE      Direct Submission
   JOURNAL     Submitted (12-NOV-1997) NIH, NLM, Rockville Pike, Bethesda, MD
              20894, USA
   FEATURES   Location/Qualifiers
           source      1..8332
                      /organism="Moloney murine leukemia virus"
                      /db_xref="taxon:11801"
45           mRNA      1..8332
                      /gene="gag-pol"
           mRNA      join(1..205,5491..8332)
                      /gene="env"
                      /product="gPr80"
           5'UTR      69..145
50           gene      357..1973
                      /gene="gag"
           CDS        357..1973

```

55

```

5          /gene="gag"
          /codon_start=1
          /product="Pr65"
          /db_xref="PID:g2801469"
          /translation=SEQ ID NO: 12
CDS       join(357..1970,1974..5573)
          /gene="gag-pol"
          /codon_start=1
          /product="Pr180"
10         /db_xref="PID:g2801471"
          /translation=SEQ ID NO: 13
          mat_peptide 360..749
          /gene="gag"
          /product="p15 MA"
          mat_peptide 750..1001
          /gene="gag"
          /product="pp12"
15         mat_peptide 1002..1790
          /gene="gag"
          /product="p30 CA"
          mat_peptide 1791..1958
          /gene="gag"
          /product="p10 NC"
20         mat_peptide join(1959..1970,1974..2336)
          /product="p14 PR"
          gene 1970..5573
          /gene="pol"
          mat_peptide 2337..4349
          /gene="pol"
          /product="p80 RT"
25         mat_peptide 4350..5570
          /gene="pol"
          /product="p46 IN"
          CDS 5513..7510
          /gene="env"
          /codon_start=1
30         /product="gPr80"
          /db_xref="PID:g2801470"
          /translation=SEQ ID NO: 14
          mat_peptide 5612..6919
          /product="gp70 SU"
          mat_peptide 6920..7507
          /product="p15E"
35         mat_peptide 6920..7507
          /product="p12E TM"
          3'UTR 7818..8264
BASE COUNT 2143 a 2395 c 2025 g 1769 t

```

40

ZU SEQ ID NO: 15

```

LOCUS      HIVNL43      9709 bp ss-RNA      VRL      15-JUN-1989
DEFINITION Human immunodeficiency virus type 1, NY5/BRU (LAV-1) recombinant
            clone pNL4-3.
ACCESSION  M19921
45         NID      g328415
KEYWORDS
SOURCE     Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), NY5/BRU (LAV-1)
            recombinant clone pNL4-3.
ORGANISM   Human immunodeficiency virus type 1
            Viruses; Retroid viruses; Retroviridae; Lentivirus; Primate
            lentivirus group.
50         REFERENCE 1 (bases 1 to 9709)
            AUTHORS  Adachi,A., Gendelman,H.E., Koenig,S., Folks,T., Willey,R.,

```

55

TITLE Rabson,A. and Martin,M.A.
 Production of acquired immunodeficiency syndrome-associated
 retrovirus in human and nonhuman cells transfected with an
 infectious molecular clone
 J. Virol. 59, 284-291 (1986)
 5 JOURNAL MEDLINE 86281827
 REFERENCE 2 (bases 1 to 9709)
 AUTHORS Buckler,C.E., Buckler-White,A.J., Willey,R.L. and McCoy,J.
 JOURNAL Unpublished (1988)
 REFERENCE 3 (sites)
 10 AUTHORS Dai,L.C., Littaua,R., Takahashi,K. and Ennis,F.A.
 TITLE Mutation of human immunodeficiency virus type 1 at amino acid 585
 on gp41 results in loss of killing by CD8+ A24-restricted
 cytotoxic T lymphocytes
 J. Virol. 66, 3151-3154 (1992)
 JOURNAL MEDLINE 92219406
 15 COMMENT [3] sites; revisions of [3].
 Clean copy of sequence [3] kindly provided by Chuck Buckler,
 NIAID, Bethesda, MD, 24-JUN-1988. The construction of pNL4-3 has
 been described in [1]. pNL4-3 is a recombinant (infectious)
 proviral clone that contains DNA from HIV isolates NYS (5' half)
 and BRU (3' half). The site of recombination is the EcoRI site at
 positions 5743-5748.
 20 The length and sequence of the vpr coding region corresponds to
 that of the BRU, SC, SF2, MAL and ELI isolates. The vpr coding
 region of these isolates is about 18 amino acid residues longer
 than the vpr coding region of the IIB isolates. In HIVNL43, this
 shift is due to a single base deletion (with respect to the
 IIB's) at position 5770. The sequence at this position is
 25 'atttc' in HIVNL43 and 'attttc' in HIVHXB2.
 The original BRU clone, sequenced by Wain-Hobson, et al. (Cell 40,
 9-17 (1985)), and the BRU portion of the pNL4-3 recombinant clone
 are different clones from the same BRU isolate.
 Two of the revisions reported in the FEATURES produced changes in
 amino acid sequences. The revision at position 2421 changes one
 amino acid residue from 'R' to 'G' in the pol coding region. The
 30 revision at positions 8995-9000 changes three amino acid residues
 from 'AHT' to 'VTP' in the nef coding region.
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..9709
 /organism="Human immunodeficiency virus type 1"
 /db_xref="taxon:11676"
 35 LTR 1..634
 /note="5' LTR"
 repeat_region 454..550
 /note="R repeat 5' copy"
 prim_transcript 455..9626
 /note="tat, rev, nef subgenomic mRNA"
 40 intron 744..5776
 /note="tat, rev, nef mRNA intron 1"
 CDS 790..2292
 /note="gag polyprotein"
 /codon_start=1
 /db_xref="PID:g328418"
 /translation=SEQ ID NO: 16
 45 CDS 2085..5096
 /partial
 /note="pol polyprotein (NH2-terminus uncertain)"
 /codon_start=1
 /db_xref="PID:g328419"
 /translation=SEQ ID NO: 17
 50 CDS 5041..5619
 /note="vif protein"
 /codon_start=1

55

```

5          CDS          /db_xref="PID:g328420"
                        /translation=SEQ ID NO: 18
                        5559..5849
                        /note="vpr protein"
                        /codon_start=1
                        /db_xref="PID:g328421"
10          misc_feature /translation=SEQ ID NO: 19
                        5743..5748
                        /note="EcoRI site of recombination"
                        join(5830..6044,8369..8414)
          CDS          /note="tat protein"
                        /codon_start=1
                        /db_xref="PID:g328416"
15          CDS          /translation=SEQ ID NO: 20
                        join(5969..6044,8369..8643)
                        /note="rev protein"
                        /codon_start=1
                        /db_xref="PID:g328417"
                        /translation=SEQ ID NO: 21
20          intron      6045..8368
                        /note="tat cds intron 2"
          intron      6045..8368
                        /note="tat, rev, nef mRNA intron 2"
          intron      6045..8368
                        /note="rev cds intron 2"
25          CDS          6061..6306
                        /note="vpu protein"
                        /codon_start=1
                        /db_xref="PID:g328422"
                        /translation=SEQ ID NO: 22
          CDS          6221..8785
                        /note="envelope polyprotein"
30          CDS          /codon_start=1
                        /db_xref="PID:g328423"
                        /translation=SEQ ID NO: 23
                        8787..9407
          CDS          /note="nef protein"
                        /codon_start=1
35          CDS          /db_xref="PID:g328424"
                        /translation=SEQ ID NO: 24

```

40

Patentansprüche

1. Retrovirale Verpackungszelle, dadurch gekennzeichnet, daß sie die retroviralen Gene *gag*, *pol* und ferner das für die Glycoproteine GP-1 und GP-2 des LCMV kodierende Gen *gp* oder einen Teil desselben enthält.
2. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie ferner das retrovirale Gen *env* und/oder regulatorische retrovirale Gene enthält.
3. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß sie ferner mindestens ein Gen aus der Gruppe bestehend aus dem für das Nukleoprotein kodierenden Gen *np*, dem für die RNA-Polymerase kodierenden Gen *l* und dem für ein Protein mit unbekannter Funktion kodierenden Gen *z* des LCMV enthält.
4. Retrovirale Verpackungszelle nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Retrovirus aus der Gruppe bestehend aus MLV-related viruses und Lentiviren ausgewählt ist.
5. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Retrovirus aus MLV, HIV, SIV oder FIV ausgewählt ist.

6. Retrovirale Verpackungszelle nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein oder mehrere Transgene enthält.
- 5 7. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Transgen/die Transgene aus der Gruppe bestehend aus Markergenen und/oder therapeutisch einsetzbaren Genen ausgewählt ist.
8. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Markergene aus der Gruppe bestehend aus *neo*, *lacZ* oder *EGFP* ausgewählt sind.
- 10 9. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, daß die therapeutisch einsetzbaren Gene aus der Gruppe bestehend aus den Suizidgenen Herpes Simplex Virus Thymidin Kinase (HSV-tk) und Cytosin Deaminase (CD), antiviral wirksamen Sequenzen und in der Tumorthherapie entsetzbaren Genen ausgewählt sind.
- 15 10. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die antiviral wirksamen Sequenzen aus der Gruppe bestehend aus Ribozymen, antisense Sequenzen, transdominant-negativ wirkenden Genen und Zytokin-Genen ausgewählt sind.
- 20 11. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß das in der Tumorthherapie entsetzbare Gen *mdr-1* ist.
12. Retrovirale Verpackungszelle nach den Ansprüchen 1 bis 11, erhältlich durch Infektion von mit einem oder mehreren Fremdgenen transfizierten Retrovirus mit Lymphozytären Choriomeningitisvirus.
- 25 13. Retrovirale Verpackungszelle nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß sie durch Transfektion einer Verpackungszelle mit einem Expressionsplasmid erhältlich ist, das das *gp*-Gen des LCMV oder einen Teil desselben und gegebenenfalls zusätzlich das *np*-Gen, das *l*-Gen und/oder das *z*-Gen des LCMV oder Teile derselben umfaßt.
- 30 14. Retrovirale Verpackungszelle nach den Ansprüchen 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß sie das retrovirale Gen *env* enthält, das für ein Env-Protein kodiert, das eine spezifische Bindung an die Zielzelle vermittelt, und wobei *gp* eine Variante ist, die für ein GP-Protein kodiert, das Fusionsaktivität aufweist.
- 35 15. Retrovirale Verpackungszelle nach den Ansprüchen 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß *gp* für die in SEQ ID NO: 26 dargestellte Sequenz kodiert.
16. Retrovirale Verpackungszelle nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß *gp* die in SEQ ID NO: 25 dargestellte Sequenz aufweist.
- 40 17. Retrovirale Verpackungszelle nach den Ansprüchen 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Retrovirus MLV ist, das kein Env-Protein exprimiert und LCMV die defekte Mutante L(ARM) ist.
18. Retrovirale Verpackungszelle, dadurch gekennzeichnet, daß sie pseudotypisierte Virionen exprimiert, die LCMV-Glykoprotein in ihrer Hülle eingebaut enthalten.
- 45 19. Pseudotypisiertes Virion, dadurch gekennzeichnet, daß es von einer Verpackungszelle nach den Ansprüchen 1 bis 4 produziert ist.
20. Retroviraler Pseudotyp-Vektor, erhältlich durch Kultivieren von Verpackungszellen nach den Ansprüchen 5 bis 17.
- 50 21. Verfahren zur Herstellung einer retroviralen Verpackungszelle nach den Ansprüchen 5 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß man eine mit einem oder mehreren Fremdgenen transfizierte retrovirale Verpackungszelle durch Infektion mit LCMV pseudotypisiert.
- 55 22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß man als retrovirale Verpackungszelle eine Verpackungszelle einsetzt, die das retrovirale Gen *env* enthält, wobei *env* so modifiziert ist, daß es für ein Env-Protein kodiert, das eine spezifische Bindung an die Zielzelle vermittelt und wobei LCMV eine *gp*-Variante enthält, die für ein GP-Protein kodiert, das Fusionsaktivität aufweist.

23. Verfahren nach Anspruch 21 und 22, dadurch gekennzeichnet, daß *gp* für die in SEQ ID NO: 26 dargestellte Sequenz kodiert.
24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß *gp* die in SEQ ID NO: 25 dargestellte Sequenz aufweist.
25. Verfahren nach Anspruch 21 oder 22, dadurch gekennzeichnet, daß man als LCMV die deletierte Mutante L(ARM) verwendet.
26. Verfahren zur Herstellung einer retroviralen Verpackungszelle nach den Ansprüchen 5 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß man eine mit einem oder mehreren Fremdgenen transfizierte retrovirale Verpackungszelle mit einem Expressionsplasmid transfiziert, das das *gp*-Gen des LCMV oder einen Teil desselben und gegebenenfalls zusätzlich ein oder mehrere Gene aus der Gruppe bestehend aus *np*, *l* und *z* des LCMV enthält.
27. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß man als retrovirale Verpackungszelle eine Verpackungszelle einsetzt, die das retrovirale Gen *env* enthält, das so modifiziert ist, daß es für ein Env-Protein kodiert, das eine spezifische Bindung an die Zielzelle vermittelt und wobei *gp* eine Variante ist, die für ein GP-Protein kodiert, das Fusionsaktivität aufweist.
28. Verfahren nach Anspruch 26 und 27, dadurch gekennzeichnet, daß *gp* für die in SEQ ID NO: 26 dargestellte Sequenz kodiert.
29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß *gp* die in SEQ ID NO: 25 dargestellte Sequenz aufweist.
30. Verfahren zur Herstellung retroviraler Pseudotyp-Vektoren, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Verfahren nach den Ansprüchen 21 bis 29 durchführt und anschließend die Verpackungszellen unter Bedingungen kultiviert, die zur Produktion von Virionen geeignet sind.
31. Verwendung einer retroviralen Verpackungszelle nach den Ansprüchen 5 bis 17 zur *in vitro*-Infektion von Zellen und zur Expression des Transgens in diesen Zellen.
32. Verwendung einer retroviralen Verpackungszelle nach den Ansprüchen 5 bis 17, gegebenenfalls formuliert mit pharmazeutisch verträglichen Hilfs- und/oder Trägerstoffen, zur Herstellung eines pharmazeutischen Präparates zur Gen-therapie.
33. Verwendung nach Anspruch 31 und 32 zur Transfektion hämatopoetischer Stammzellen.
34. Verwendung nach Anspruch 32 und 33, wobei die Gentherapie die Therapie von infektiösen Erkrankungen, Neoplasien, Melanomen sowie anderen durch Gentherapie zugänglichen Erkrankungen umfaßt.
35. Verwendung nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß die infektiöse Erkrankung eine HIV-Infektion oder AIDS ist.
36. Verwendung nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß die Neoplasie das Mamma-Karzinom ist.
37. Pharmazeutisches Präparat zur Gentherapie, dadurch gekennzeichnet, daß es retrovirale Verpackungszellen nach einem der Ansprüche 5 bis 17 und gegebenenfalls pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe umfaßt.
38. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 37, dadurch gekennzeichnet, daß die Gentherapie die Therapie von infektiösen Erkrankungen, Neoplasien, Melanomen sowie anderen durch Gentherapie zugänglichen Erkrankungen umfaßt.
39. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, daß die infektiöse Erkrankung eine HIV-Infektion oder AIDS ist.
40. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, daß die Neoplasie das Mamma-Karzi-

nom ist.

41. Lymphozytäres Choriomeningitis Virus, dadurch gekennzeichnet, daß es das Gen *gp* enthält, das für die in SEQ ID NO: 26 dargestellte Sequenz oder einen Teil derselben kodiert.
- 5 42. Lymphozytäres Choriomeningitisvirus nach Anspruch 41, dadurch gekennzeichnet, daß *gp* die in SEQ ID NO: 25 dargestellte Sequenz oder einen Teil derselben aufweist.
43. Nukleinsäuresequenz, dadurch gekennzeichnet, daß sie die in SEQ ID NO: 25 dargestellte Sequenz oder ein Teil
- 10 derselben aufweist.
44. Protein, dadurch gekennzeichnet, daß es die in SEQ ID NO: 26 dargestellte Aminosäuresequenz oder einen Teil derselben aufweist.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

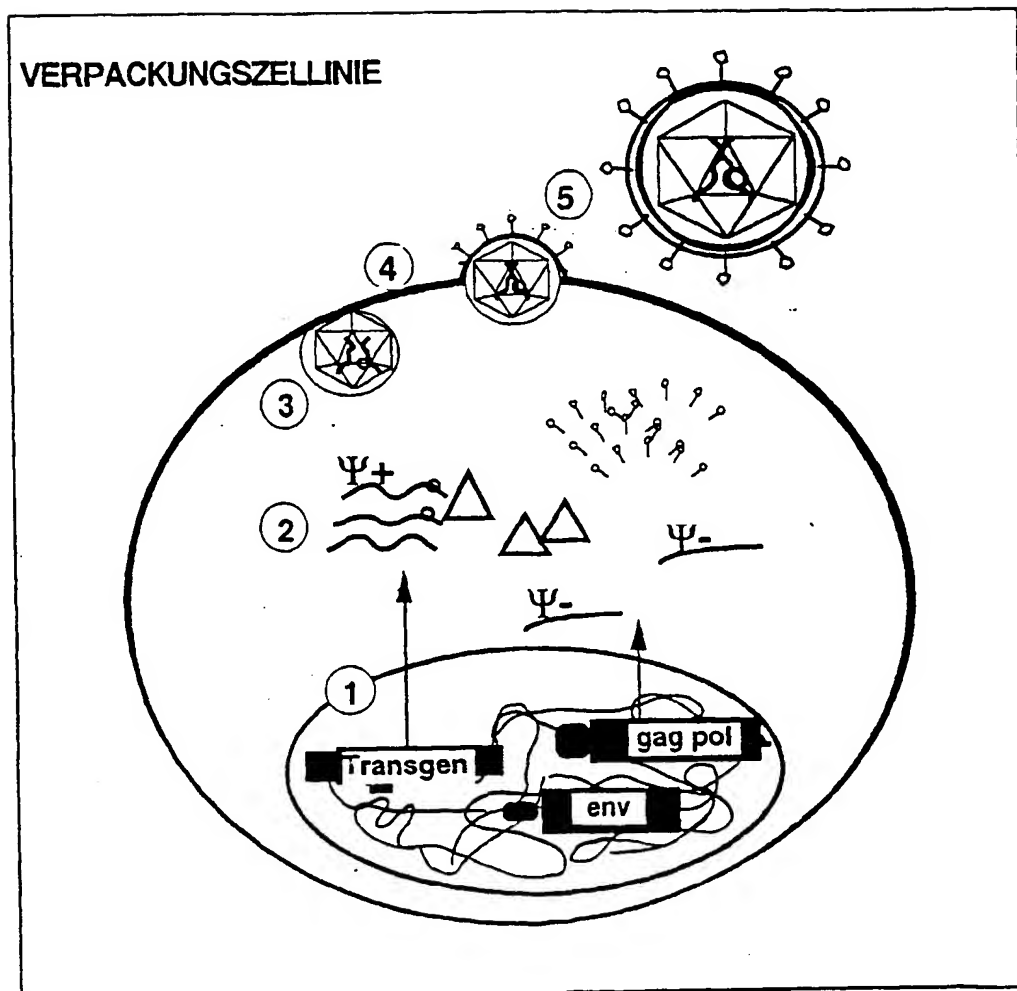
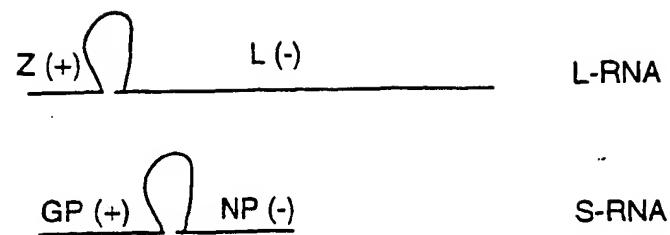
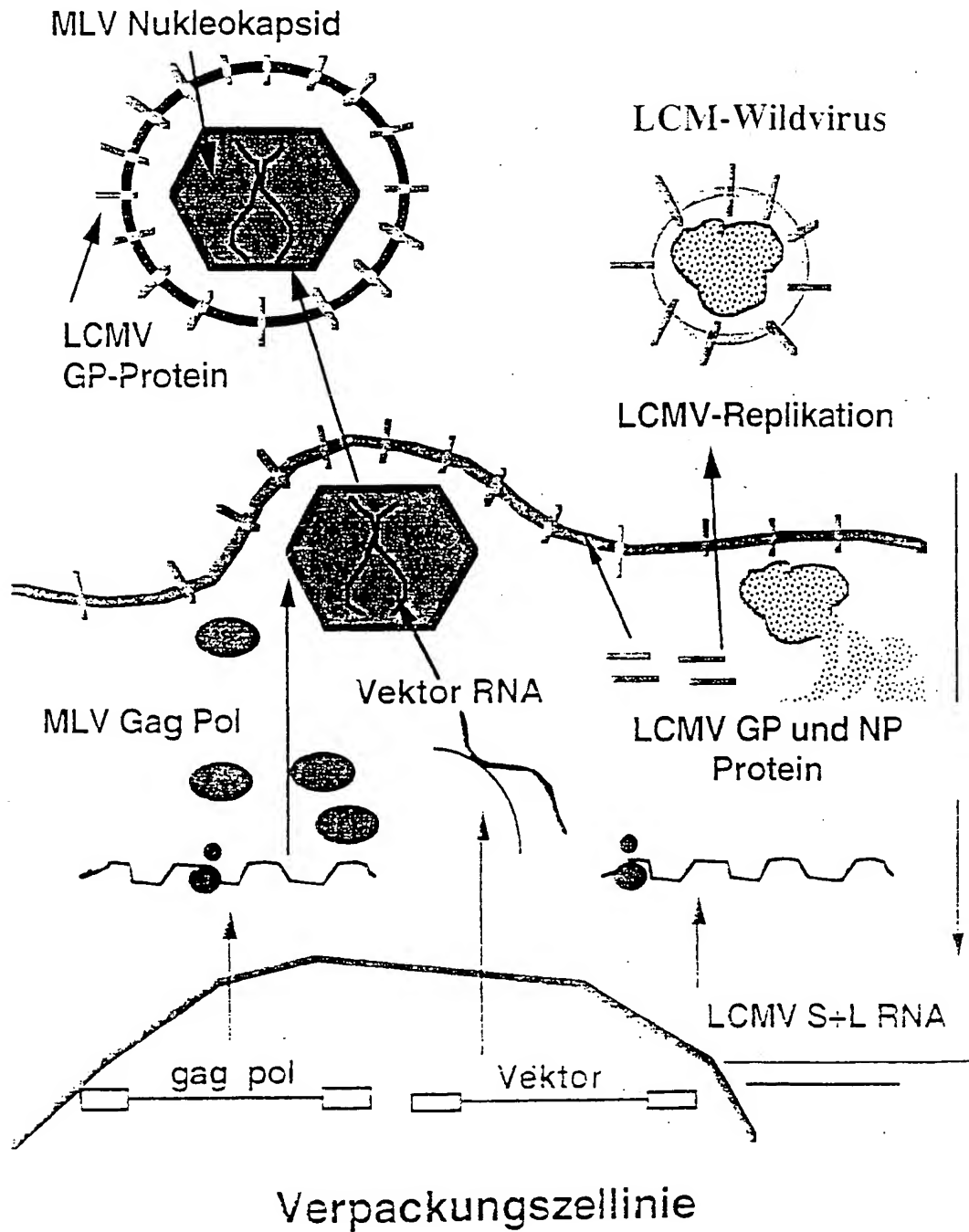
Fig. 1

Fig. 2

MLV/LCMV-Pseudotyp

Fig. 3



Ektope Expression des LCMV-GP

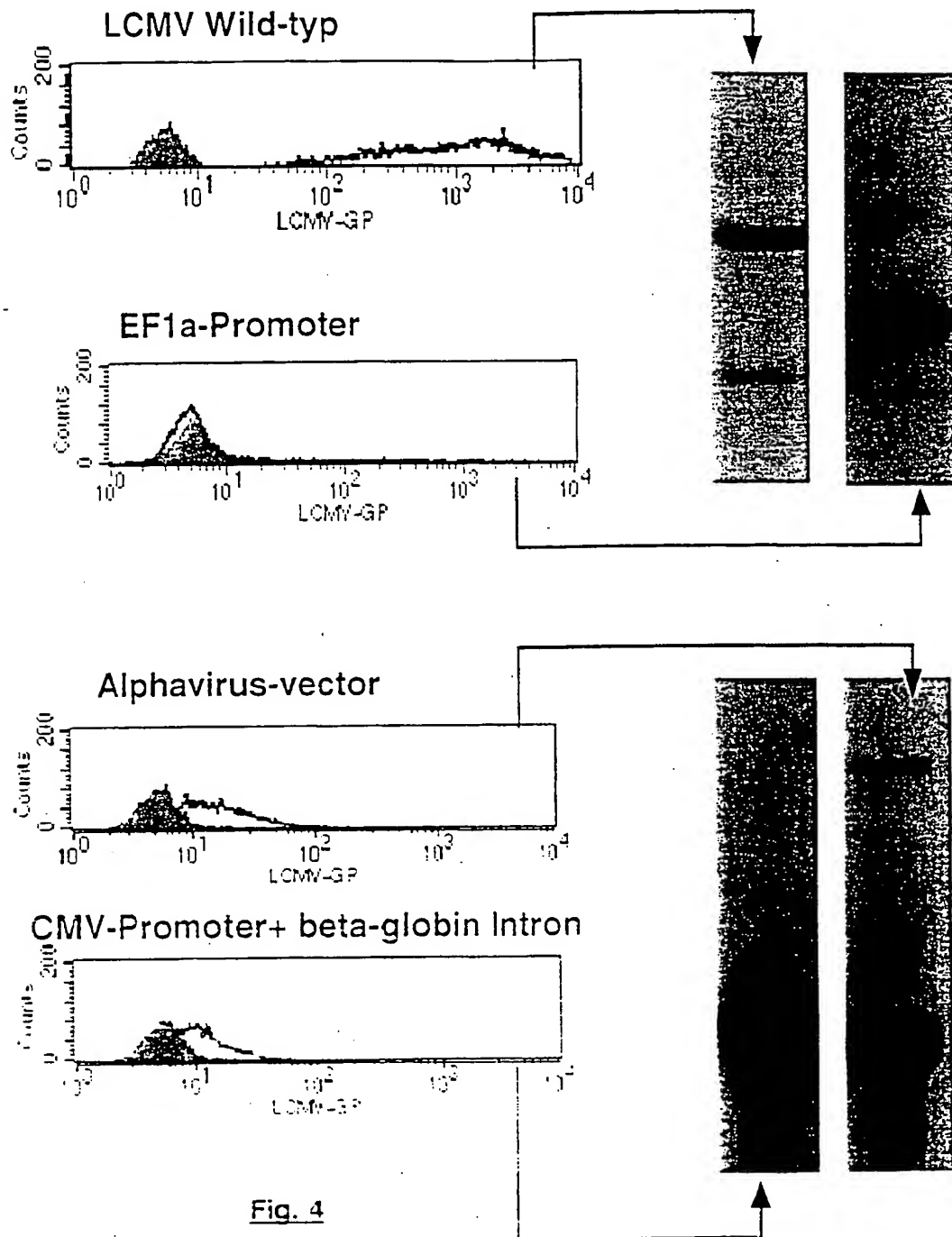


Fig. 5

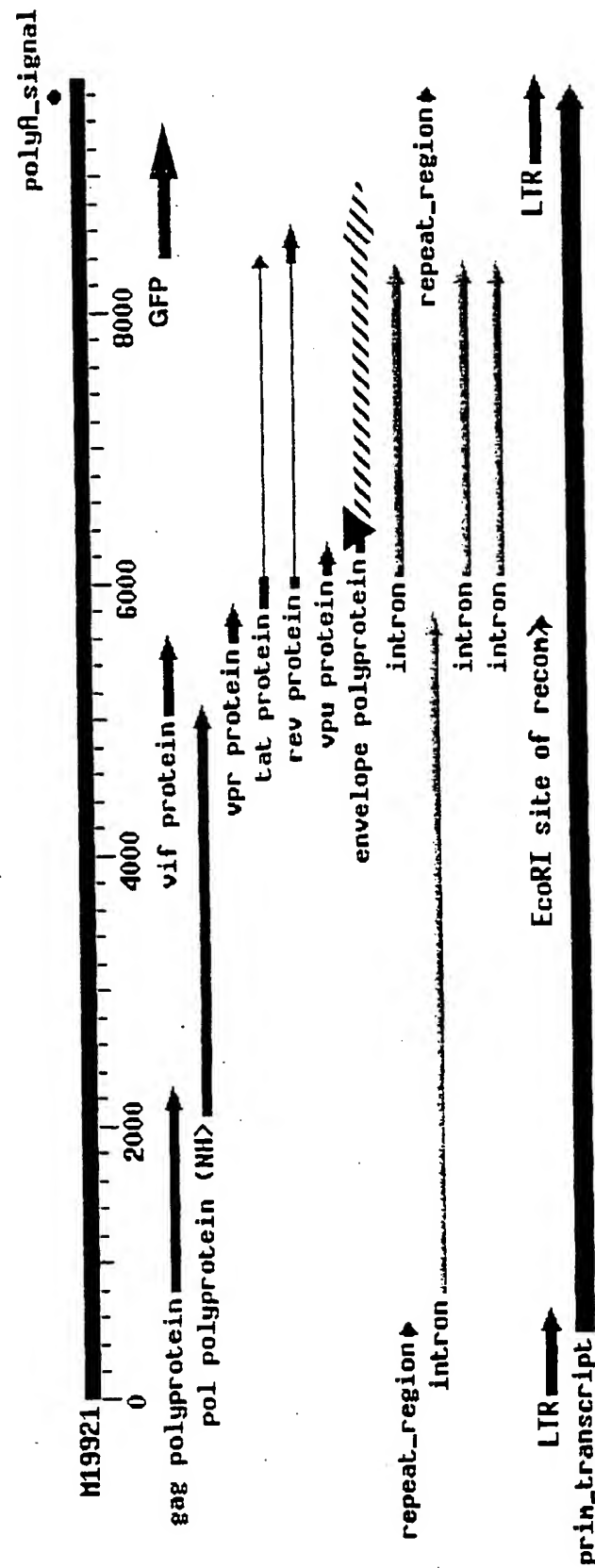


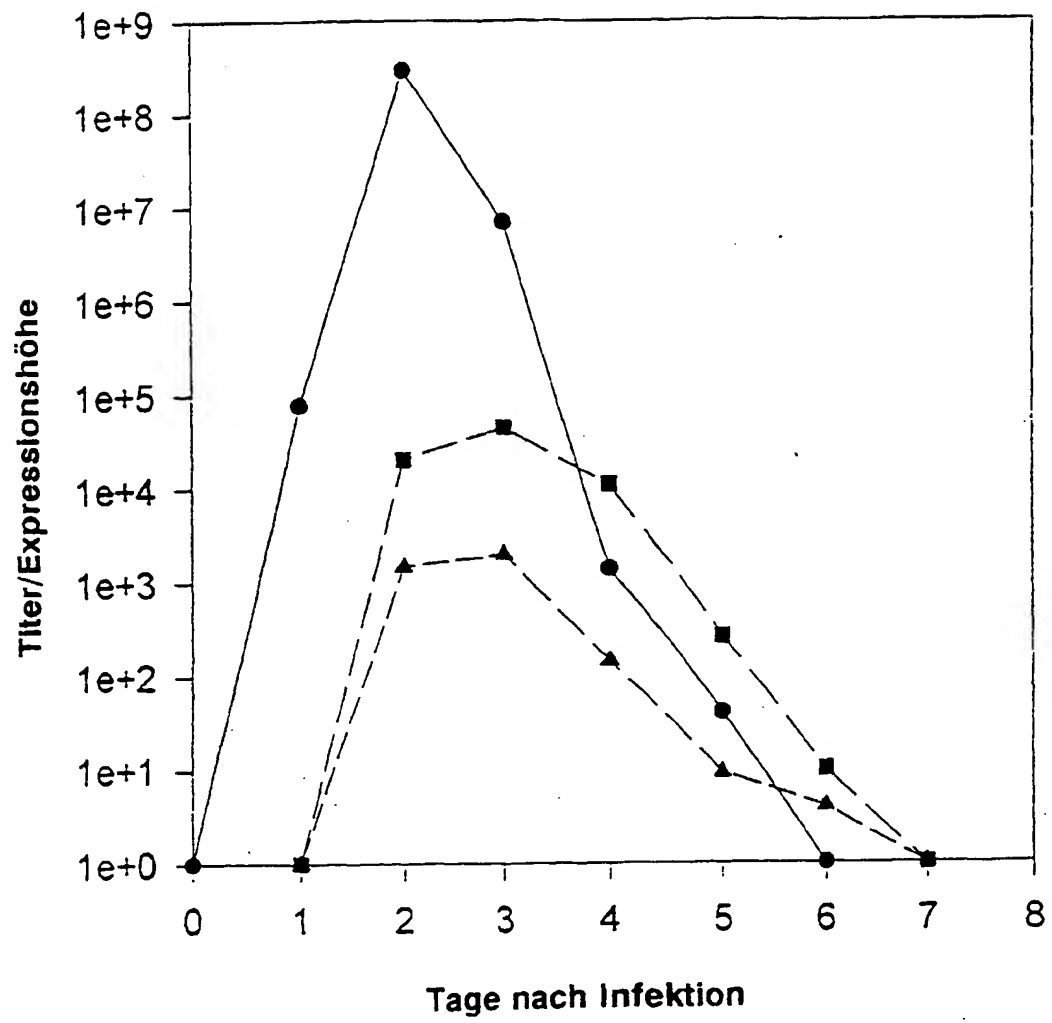
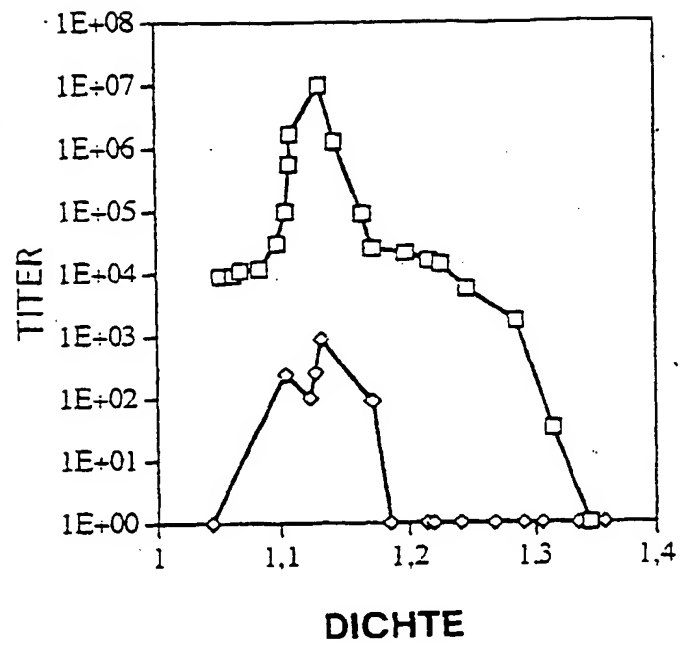
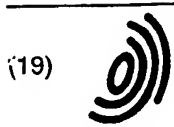
Fig. 6

Fig. 7



(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(88) Veröffentlichungstag A3:
21.06.2000 Patentblatt 2000/25

(43) Veröffentlichungstag A2:
07.06.2000 Patentblatt 2000/23

(21) Anmeldenummer: 99250415.9

(22) Anmeldetag: 25.11.1999

(51) Int. Cl.⁷: C12N 15/867, C12N 5/10,
C12N 7/01, A61K 48/00,
C07K 14/08, C12N 15/40

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 26.11.1998 DE 19856463

(71) Anmelder:
Heinrich-Pette-Institut
20251 Hamburg (DE)

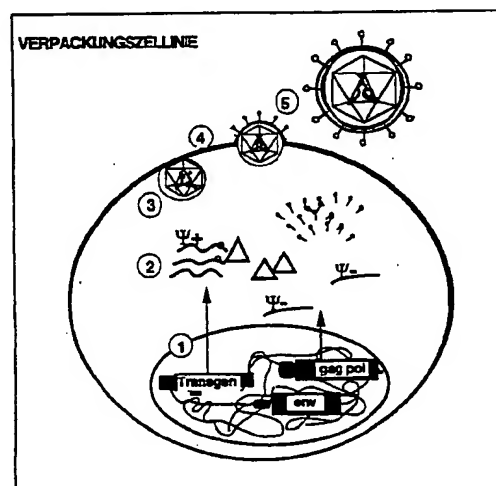
(72) Erfinder:
Laer, Meike-Dorothee von
22529 Hamburg (DE)

(74) Vertreter: UEXKÜLL & STOLBERG
Patentanwälte
Beselerstrasse 4
22607 Hamburg (DE)

(54) **Retrovirale, mit LCMV-Glykoprotein pseudotypisierte Hybrid-Vektoren**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein die Pseudotypisierung von Retroviren mit lymphozytärem Choriomeningitisvirus. Insbesondere betrifft die Erfindung die Pseudotypisierung in MLV-Verpackungszellen, die gegebenenfalls *env*-deletiert sind, oder in Verpackungszellen, die von Lentiviren abgeleitet sind. Vorzugsweise erfolgt die Pseudotypisierung durch Infektion mit LCMV oder einer vorzugsweise *env*-deletierten Mutante, oder durch Transfektion mit einem das *gp*-Gen des LCMV oder einen Teil desselben und ggf. zusätzlich das *np*-, das *1*- und/oder das *z*-Gen des LCMV enthaltenden Expressionsplasmid. Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung derartiger Pseudotypen zur Infektion von Zellen, insbesondere die Verwendung in der Gentherapie.

Fig. 1





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 99 25 0415

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|---|--|---|---|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7) |
| X,D | TENG M. N. ET AL.: "A single amino acid change in the glycoprotein of lymphocytic choriomeningitis virus is associated with the ability to cause growth hormone deficiency syndrome." JOURNAL OF VIROLOGY, Bd. 70, Nr. 12, Dezember 1996 (1996-12), Seiten 8438-8443, XP002135672 | 41-44 | C12N15/867 C12N5/10 C12N7/01 A61K48/00 C07K14/08 C12N15/40 |
| A | * das ganze Dokument * | 1-40 | |
| D,X | VILLARETE L. ET AL.: "Tissue-mediated selection of viral variants: Correlation between glycoprotein mutation and growth in neuronal cells." JOURNAL OF VIROLOGY, Bd. 68, Nr. 11, 1994, Seiten 7490-7496, XP002135673 | 41-44 | |
| A | * das ganze Dokument * | 1-40 | |
| A | MILLER N. ET AL.: "TARGETED VECTORS FOR GENE THERAPY" FASEB JOURNAL, US, FED. OF AMERICAN SOC. FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY, BETHESDA, MD, Bd. 9, Nr. 2, 1. Februar 1995 (1995-02-01), Seiten 190-199, XP000616414 ISSN: 0892-6638 * das ganze Dokument * | 1-40 | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7) C12N A61K C07K |
| A | BRUNS M. ET AL.: "Lymphocytic choriomeningitis virus." VIROLOGY, Bd. 137, 1984, Seiten 49-57, XP000891881 * das ganze Dokument * | 1-40 | |
| -/- | | | |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | | |
| Recherchenort DEN HAAG | | Abschlußdatum der Recherche 13. April 2000 | Prüfer Mandl, B |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur | | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument | |

EPO FORM 1503 03.92 (P4/C03)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 99 25 0415

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | |
|---|---|--|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch |
| P, X | MILETIC H. ET AL.: "Retroviral vectors pseudotyped with lymphocytic choriomenengitis virus." JOURNAL OF VIROLOGY, Bd. 73, Nr. 7, Juli 1999 (1999-07), Seiten 6114-6116, XP002135674 * das ganze Dokument * | 1-10, 12-14, 18-22, 26,27, 30-32, 37,38 |
| | | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7) |
| | | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7) |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | |
| Recherchenort | Abchlußdatum der Recherche | Prüfer |
| DEN HAAG | 13. April 2000 | Mandl, B |
| <p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p> | | |

EPO FORM 1503 03 82 (PUB/C03)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.